

**Autoradiographische und metabolische Studien
mit Tritium-markiertem 17 β -OESTRADIOL
an der weiblichen kastrierten Ratte**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Brigitte Karallus, geb. Bergner
aus Leipzig

Marburg 1967

Aus dem

Institut für Strahlenbiologie und medizinische Isotopenanwendung
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. Graul

**Autoradiographische und metabolische Studien
mit Tritium-markiertem 17 β -OESTRADIOL
an der weiblichen kastrierten Ratte**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
in der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Brigitte Karallus, geb. Bergner

aus Leipzig

Marburg 1967

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 8.8.1967
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Professor Dr. med. Dr. med. dent. habil
H. HEUSER

Referent: Professor Dr. med. Dr. rer. nat.
E. H. GRAUL

Korreferent: Professor Dr. med.
DU MESNIL DE ROCHEMONT

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

1.) EINLEITUNG

2.) LITERATURÜBERSICHT

- A) Geschlechtshormone und ihre Geschlechtsunspezifität
- B) Vorkommen der Oestrogene
- C) Konstitutionsaufklärung der drei klassischen Oestrogene und ihre Bildungsstätten
- D) Biogenese
- E) Metabolismus
- F) Wirkungsmechanismen

3.) EXPERIMENTELLER TEIL

- A) Einführung zu den Tierexperimenten
- B) Markierung des 17 β -Oestradiols mit Tritium
- C) Papierelektrophoretische Untersuchungen an Rattenseren
- D) Aktivitätsbestimmungen im Flüssigkeits-Szintillationszähler
- E) Meßergebnisse
- F) Beziehungen zwischen Oestrogenen und dem Blut
- G) Auswertung der Meßergebnisse
- H) Autoradiographie
- I) Auswertung der Autoradiographien

4.) DISKUSSION

5.) ZUSAMMENFASSUNG

6.) LITERATURNACHWEIS

1.) EINLEITUNG

Der Begriff "Hormon" wurde erstmalig von STARLING und BAYLISS geprägt. Sie bezeichneten damit solche Stoffe, die von bestimmten Körperzellen gebildet werden und als "chemical messenger" über den Blutweg andere Zellen zur Tätigkeit anzuregen vermögen. Damit war neben der nervalen Regulation eine chemische bzw. humorale Steuerung aufgezeigt worden, die die Tätigkeit der Zellen und Organe lenkt und koordiniert.

Obwohl einerseits jeder Körperzelle mit ihren besonderen Eigenschaften und spezifischen Funktionen eine gewisse Autonomie zuerkannt werden kann, wird andererseits beim vielzelligen Organismus das individuelle Leben der Einzelzellen den Funktionen der Gewebe untergeordnet.

Erst das sinnvolle Zusammenwirken aller Zellstrukturen, die Zusammenfassung aller Einzelleistungen zu einer Gesamtleistung bilden den Organismus.

Die Absonderung und Diffusion von Zwischen- oder Endprodukten des Intermediärstoffwechsels in das Blut führt zu besonderen Milieubedingungen. Claude BERNARD sprach von einer "sécrétion interne", zu der jede Zelle befähigt ist.

Die eigentlichen Bildungsstätten der Hormone sind die endokrinen Organe, die ihre spezifischen Produkte kontinuierlich oder zeitweise ins Blut ausschütten.

Während die meisten Hormone für das Leben des Organismus unentbehrlich sind, kann beim Fehlen der Geschlechtshormone das Individuum weiterexistieren.

Die Sexualhormone nehmen insofern eine Sonderstellung ein, als sie für den Fortbestand der Art, nicht aber für den Fortbestand des Organismus von Bedeutung sind. Zwar haben sie neben ihren eigentlichen Aufgaben als Fortpflanzungshormone Einfluss auf die verschiedenen Körperfunktionen, sie bewirken aber für das Einzelindividuum keine lebensnotwendigen Vorgänge.

So atrophieren beim hypophysektomierten erwachsenen Tier lediglich die Gonaden; beim jungen Tier tritt keine Geschlechtsreife ein. Das Entfernen der Ovarien bewirkt keine verminderte Anpassungsfähigkeit des weiblichen Organismus.

Nach dem Eingriff der beidseitigen Oophorektomie erhielten sich auch unsere Versuchstiere rasch. Eines der oestrogenen Hormone, das die Tiere nun nicht mehr selbst zu produzieren vermochten, führten wir als Tritium-markiertes 17 β -Oestradiol per Injektionem zu.

Es geht in der vorliegenden Arbeit nicht um die Wirkung dieses Hormons, sondern lediglich um die Verteilung des 17 β -Oestradiols im Gewebe und im Blut kastrierter Ratten nach verschiedenen Applikationszeiten anhand autoradiographischer und metabolischer Studien.

2.) LITERATUR - ÜBERSICHT

A) Geschlechtshormone und ihre Geschlechtsunspezifität:

Die Erhaltung des Individuums und die Erhaltung der Art sind nach SEITZ die zwei Grund~~atz~~lichkeiten, in denen "das Leben gipfelt". Dabei ist die Fortpflanzung der wichtigste Vorgang, den es überhaupt gibt, zitiert SEITZ (1), "denn ohne Fortpflanzung wäre alle lebende Kreatur auf unserer Erde längst wieder ausgestorben".

Während sich nun Lebewesen auf niederer Entwicklungsstufe durch einfache Durchschnürung oder Knospenbildung vermehren können, bedürfen höher entwickelte besonders differenzierter Zellen, die die Fähigkeit besitzen, Geschlechtshormone zu bilden.

Seit der erstmaligen Prägung des Begriffes "Hormon" durch STARLING (2) im Jahre 1905 sind unendlich viele Erkenntnisse auf dem Gebiet der Hormonforschung im allgemeinen und der Geschlechtshormonforschung im besonderen gewonnen worden, ohne bisher letzte Aufklärung über Metabolismus, Biosynthese usw. gefunden zu haben. Man weiß heute, daß die Geschlechtshormone nicht geschlechtsspezifisch sind, sondern daß allein das Verhältnis der Oestrogene zu den Androgenen entscheidend ist.

So tragen viele der Wirbeltiere Überreste der zweigeschlechtlichen Anlage mehr oder weniger lange in sich. Bei den Fröschen entwickelt sich das endgültige Geschlecht, nachdem lange Zeit beide Geschlechtszellen in der Keimdrüse nebeneinander bestanden hatten. Nach ROMEIS findet sich in den Eierstöcken weiblicher Ratten regelmäßig testoides Gewebe vor, das besonders beim alternden Tier zutage tritt. Auch beim Menschen vermögen Eierstockgeschwülste männliche Geschlechtshormone zu bilden. Andererseits isolierten DOHRN (3), GLASS (4), STEINACH (5) und KENYON (6) Oestrogene aus Männerharn, die zum größten Teil aus den Testes entstammten.

HÄUSSLER und LEVIN (7,8) fanden Oestron im Urin und Hodengewebe von Hengsten und bewiesen damit, daß selbst die Testes Bildner weiblicher Hormone sind. Die bisexualle Potentialität ist nach SEITZ (9) in jenen Fällen besonders deutlich, in denen es durch eine geschwulstmäßige Wucherung der Überreste in den Keimdrüsen zu einer Geschlechtsumkehr bzw. zu einem Pseudohermaphroditismus kommt. Ein echtes Zwittertum, das bei niederstehenden Tieren die Regel ist, stellt aber beim Säuger und beim Menschen schwere pathologische Erscheinungen dar. Oestrogene und Androgene finden sich etwa im gleichen Verhältnis in einem Körper, der weder als männlich, noch als weiblich zu bezeichnen ist.

Das regelmäßige Vorhandensein z.B. der Oestrogene auch im männlichen Individuum macht verständlich, daß wir laufend mit tierischen Nahrungsmitteln Oestrogene zu uns nehmen. Aber auch in fast allen Pflanzen findet man oestrogene Substanzen, die sich nach BERSIN (10) durch Aufbereitung kaum verändern sollen. So errechnete HOHLWEG (11), daß ein erwachsener Mensch mit der Nahrung durchschnittlich 50 - 400 ME (Mäuseeinheiten) pro Tag zu sich nimmt. KOCH und HEIM (12) bezeichneten den Hopfen als äußerst oestrogenreich. Von 20 - 30 µg Oestrogen pro kg Hopfen sollen noch ca. 0,001 - 0,036 mg in 100 ml Bier enthalten sein.

Wie Beobachtungen bei der Penicillinherstellung ergeben haben (13), scheinen auch von Pilzen oestrogene Wirkstoffe gebildet zu werden. LEVY (14) beschrieb Mastopathien nach Digitalismedikation.

B) Vorkommen der Oestrogene:

Die Hauptquellen der Oestrogenproduktion beim Menschen befinden sich in den Drüsengewebe von Ovar, Nebenniere und Plazenta. So wird das Follikelhormon bei der nichtschwangeren Frau hauptsächlich im Ovar gebildet. Von den etwa 500 000 Primärfollikeln reifen unter dem Einfluß

hypophysärer FSH-Aktivität nur ca. 350 - 400 (15) im Laufe der Geschlechtsreife bis zur Ovulation und Gelbkörperbildung heran. Die Oestrogenbildung erfolgt nach DICZFALUSY unter FSH- und LH-Stimulierung. Da die Konzentration in der Follikelflüssigkeit und im Gelbkörper beim Menschen relativ hoch ist, bezeichnen SAND und WESTMAN (16, 17) die Granulosazellen als eigentliche Hormonbildner, zumal bei Granulosazellentumoren häufiger als bei Thekazellentumoren die Oestrogenbildung ansteigt. Auch ALLEN und Mitarbeiter (18) fanden in Granulosazellen aus der Follikelwandung reichlich biologisch bestimmbare Oestrogene. Unter Gonadotropingaben wird der Phosphatstoffwechsel vorwiegend in der Granulosa gesteigert. Es ist heute nach DICZFALUSY sicher, daß Progesteron nur von den Granulosazellen gebildet wird.

Da die Oestrogene z.T. aus Progesteron entstehen können, darf man annehmen, daß Vorläufer der Oestrogene in den Granulosazellen gebildet werden, die später weitere biologische Umwandlungen durchmachen.

Im Gegensatz dazu zeigten ASCHHEIM und ZONDEK (19), daß die Thekazellen oestrogene Wirkung haben. Sie implantierten Thekagewebe menschlicher Follikel in kastrierte Mäuse und bewiesen auch bei Implantation von Ovarialrinde schwangerer Frauen, die reichlich Thekazellen enthält, vaginale Verhornung. FEVOLD (20) und SELYE (21) erreichten an infantilen und hypophysektomierten Ratten durch Behandlung mit Hypophysen- oder Choriongonadotropin eine Follikelhormonproduktion der Ovarien. Da nur Thekazellwucherungen festzustellen waren, erklärten sie die Thekazellen zu den Produzenten der Follikelhormone. Auch kam es nach Zerstörung der empfindlichen Granulosazellen durch Röntgenstrahlen zum Daueroestrus beim Mäuseweibchen. Nach HOHLWEG (22) ist die Thekazellschicht die alleinige Produzentin der Hormone, da nur sie Vaskularisation aufweist.

Andererseits wurde argumentiert, daß die Thekazellen als Abkömmlinge des Bindegewebes kaum zu differenzierter Hormonsynthese fähig sein dürften (23). WESTMAN (24)

zerstörte beim Kaninchen die Membrana Granulosa. Er nahm an, daß bei dieser Spezies die Thekazellen das Hormon bilden, bei Fehlen der Granulosazellen aber bald die Produktion einstellen. Nach DICZFALUSY und LAURITZEN (25) soll die Oestrogenbildung in beiden Zellarten des Ovars erfolgen können. Die Hauptquelle liegt aber in den Granulosazellen, während das Hormon in der Theka weiter metabolisiert und gespeichert und von dortmit einem Gipfel zur Zeit der Follikelreifung in den Blutkreislauf abgegeben wird. Beide Autoren erklären auch die interstitiellen Zellen - besonders unter pathologischen Zuständen - zu Hormonbildnern. Sie erkennen mit PARKES (26), GELLER (27), HUMPHREYS und ZUCKERMAN (28) u.a. die Röntgenbestrahlungsexperimente von STEINACH und HOLZKNECHT (29) an Meerschweinchen an, die von STIEVE (30) kritisiert wurden.

Während nach SELYE (31) in infantilen und senilen Ovarien nur geringe Follikelhormonmengen nachweisbar sind, produziert das erwachsene Rattenweibchen etwa 0,4 μ g Hormon; das sind 2 μ g pro kg Tier am Tag. Klinische Untersuchungen beim Menschen ergeben dieselbe Größenordnung pro kg Körpergewicht. Ein Oestradiol-Kristallisat-Preßling, den GIESSEN (32) einer kastrierten Frau implantierte, gab soviel Hormon ab, wie für die Proliferationsphase nötig war. Die Rückwägung nach einem Jahr ergab einen Verbrauch von 3 mg pro Monat. Das entsprach einer Hormonmenge von 2 μ g pro kg, die, wie auch INHOFFEN und HOHLWEG bewiesen, täglich vom Ovar gebildet wurde.

Dabei enthält nach HOHLWEH (33) der Follikelsaft im Ovar nicht mehr als 4 - 6 ME pro ccm, während in der Follikelphase eines normalen Cyclus mehr als 100 000 ME gebildet werden. Das Hormon wird sofort an das Blut abgegeben, so daß man im Ovar nur die Hormone findet, die gerade im Moment der Entnahme in der Drüse enthalten sind.

Dieselbe überraschende Feststellung wurde an der Plazenta gemacht. Nach HOHLWEG (34) konnten aus 100 kg menschlicher Plazenta 3,8 mg Oestradiol und 3,5 mg Oestron isoliert werden. Eine reife menschliche Plazenta enthält aber nur etwa 50 μ Follikelhormon. Da im Harn der schwangeren Frau täglich 30 mg ausgeschieden werden, muß die Tagesproduktion mindestens das 500-fache betragen.

Es ist mit biologischen Methoden von HALBAN (35), ASCHNER und GRIGORIU (36), HIROSE (37) u.a. nachgewiesen worden, daß die Plazenta in der Gravidität die Hauptquelle der Oestrogene ist. Auch nach beidseitiger Oophorektomie im 2. - 4. Monat der Schwangerschaft fanden HARTMANN (38), SZARKA (39) u.a. keine verminderte Oestrogenausscheidung im Harn, so daß die Gravidität nicht beeinträchtigt wurde. Die Oestrogenausscheidung nimmt parallel mit der Größen- und Gewichtszunahme der Plazenta zu und fällt nach Ausstoßung stark ab, wie BROWN (40) zeigen konnte.

Für die Oestrogenbildung in der Plazenta scheint die fetale Blutzirkulation entscheidend zu sein. CASSMER (41) stellt bei Belassung von Plazenta und Fetus bereits nach einstündiger Nabelschnurabklemmung einen starken Abfall der Oestrogenkonzentration im Plazentagewebe fest. Nach Perfussion in vivo ergaben sich wieder normale Werte. Wahrscheinlich entstehen die Hormone vor allem im fetalen Teil, wie Untersuchungen an tierischen Plazenten und an fetalen Blasenmolengewebe ergaben (42). Über den genauen Ort der Oestrogenbildung besteht auch bei der Plazenta noch keine Klarheit. Untersuchungen der amerikanischen Forscher WISLOCKI und BENNETT (43) zeigten, daß das Syncytium Bildungsstätte der Oestrogene ist. Etwa 80 % der oestrogenen Wirkstoffe wiesen STARR u.a. (44) in den Mitochondrien, Mikrosomen und in der überstehenden Flüssigkeit nach. Sie konnten nur 20 % in den Zellkernen finden.

Über eine genaue Lokalisation der Oestrogenbildung besteht auch in der NNR noch keine Einigkeit. Da die NNR-

Steroidhormone produzieren kann und entwicklungsgeschichtlich wie die Gonaden dem Cölomepithel entstammt, bezeichnet man sie als akzessorische Keimdrüse oder als dritte Gonade (45), obwohl sie selbst am Fortpflanzungsgeschehen nicht beteiligt ist. Die Stimulierung der Ausbildung Müllerscher Gänge während der Fetalzeit, Regulierung des Steroidstoffwechsels im geschlechtsreifen Alter und kompensatorische Einflüsse während der Menopause sind rein hypothetische Aufgaben.

Daß in der NNR Sexualsteroiden produziert werden, wurde mit biologischen Methoden an verschiedenen Tierarten bewiesen. So konnten COREY (46), BRITTON (47) und FIN-KELSTEIN, HESTRIN und KOCH (48) mit NN-Extrakten bei kastrierten Ratten einen Oestrus erzeugen. BEALL u.a. (49) isolierten Oestron aus Nebennieren von Rindern. Sie nahmen die Hormonproduktion auch in der menschlichen NNR an. Besonders bei Neugeborenen und Feten fanden PARKER und TENNEY (50), LELONG, VANDEL, BORNICHE und JAYLE (51) große Hormonmengen, die aber unter dem Einfluß plazentarer Hormone entstanden sein konnten. DICZFALUSY und WESTMAN (52, 53) wiesen Oestrogene im Urin oophorektomierter Frauen nach, deren Menge nach ACTH-Gaben anstieg (54, 55). Nach gleichzeitiger Adrenalectomie konnten von BULBROOK und GREENWOOD (56) auch nach ACTH-Stimulierung keine Hormone im Harn gefunden werden. Eine höhere Oestrogenkonzentration im NNR-Venenblut im Vergleich zum peripheren Venenblut gaben HARDY et al (57) an, während BREUER (58) in neueren Untersuchungen diese Feststellung nicht machte.

Obwohl es bisher nicht gelungen ist, aus normalem menschlichen NNR-Gewebe Oestrogene zu isolieren, nimmt man doch analog den Tierversuchen an, daß die menschliche NNR auch Oestrogene zu erzeugen vermag. Die erste Reindarstellung eines Oestrogens aus menschlichen NNR-Ca-Gewebe gelang SALHANICK und ZARROW (59), die Equilenin isolieren konnten, das nach DICZFALUSY nur Zwischenprodukt sein soll.

Equilenin und Equilin wurden von GIRARD und Mitarb. (60)

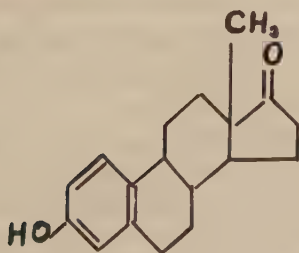
1932/33 im Urin trächtiger Stuten besonders reichlich während der letzten Schwangerschaftsmonate nachgewiesen. Da die Struktur des Oestrone schon bekannt war, konnte man die beiden neuen Oestrogene als Di- und Monodehydro- Derivate des Oestrone bezeichnen. 1929 hatten DOISY (61, 62, 63) und BUTENANDT (64, 65, 66) kristallines Follikelhormon aus Schwangerenurin isoliert, deren Analysen die Summenformel $C_{18}H_{22}O_2$ ergab.

C) Konstitutionsaufklärung der drei klassischen Oestrogene und ihre Bildungsstätten:

Nach BUTENANDT, DOISY und MARRIAN musste ein O- Atom zu einer phenolischen OH- Gruppe, das andere zu einer Ketogruppe gehören, nach der für den Wirkstoff der Name **O e s t r o n** gewählt wurde.

Die endgültige Strukturaufklärung gelang durch Untersuchungen von BERNAL (67), MARRIAN und HASLEWOOD (68), WESTPHAL und BUTENANDT(69).

BUTENANDT (70) veröffentlichte 1932 eine aus dem Gerüst von vier Ringen bestehende Formel mit drei benzolischen Doppelbindungen, die sich als richtig erwiesen hat:

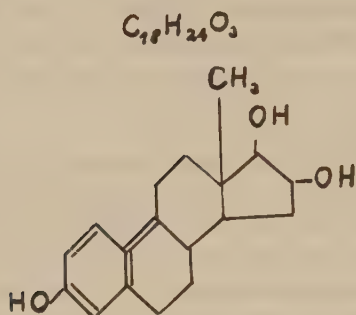


Formel von Oestron

1, 3, 5 (10) -Oestratrien -3- 16- 17- on

Zur gleichen Zeit erschienen Arbeiten über die Strukturaufklärung eines weiteren oestrogenen Wirkstoffes, der nur im Urin schwangerer Frauen vorkommt. MARRIAN (71), BUTENANDT (72) u.a. gaben die Summenformel $C_{18}H_{24}O_3$

an und prägten wegen der drei Hydroxylgruppen den Namen O e s t r i o l .

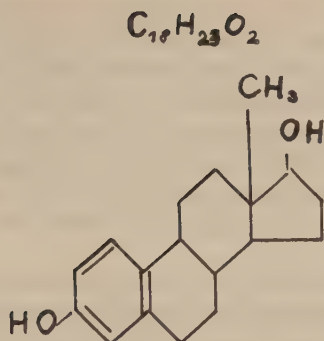


Formel des Oestriol

1, 3, 5 (10)- Oestratrien -3-16-17 -triol

Das Oestriol ist wegen seines starken hydrophilen Charakters bei oraler Applikation besonders wirksam. Intravenös injiziert ist seine biologischen Aktivität bedeutend geringer als die des Oestrone.

Biologisch achtmal wirksamer als das Oestron ist nach HOHLWEG (73) das Oestradiol, das 1933 von den Mitarbeitern der Schering AG SCHWENK und HILDEBRANDT (74, 75, 76) durch partielle Hydrierung in alkalischen oder neutralen Milieubedingungen aus Oestron gewonnen wurde. Es wird als das eigentliche Follikelhormon bezeichnet, nachdem 1935 DOISY, Mc CORQUODALE und THAYER (77, 78) aus der Follikelflüssigkeit von 4000kg Schweineovarien vor allem Oestradiol isoliert hatten.



Formel von Oestradiol

1, 3, 5 (10) - Oestratrien - 3,-17 β-diol.

Von der Entdeckung durch ASCHHEIM und ZONDEK (79, 80) 1927, daß schwangere Frauen große Mengen oestrogenen Materials im Urin ausscheiden, bis zur Differenzierung und Reindarstellung der drei wichtigsten Hormone vergingen nur wenige Jahre. Man erkannte bald die chemische Ähnlichkeit zu Sterinen und Gallensäuren, die sich ebenfalls aus vier Ringen aufbauen.

Das Steroidgerüst der Oestrogene besteht aus einem Fünfferring und drei Sechse-Kohlenstoffringen, die man als A, B, C, D-Ring bezeichnet. Der A-Ring ist aromatisch, am Steranringssystem befindet sich keine Seitenkette. Die Formeln aller natürlichen Oestrogene lassen sich von einer Grundverbindung - dem Oestran - ableiten. Sie unterscheiden sich strukturell lediglich durch verschiedene Doppelbindungen oder Substituenten.

Mit der Konstitutionsaufklärung der drei klassischen Oestrogene wurde eine neue Definition des Oestrogenbegriffes notwendig. Während man bisher zu den Oestrogenen die Hormone gezählt hatte, die an der Vaginalschleimhaut kastrierter Ratten Verhornungserscheinungen auslösen, traten nun chemische Gesichtspunkte in den Vordergrund, die aber auch nicht befriedigten.

Man bezeichnet heute die von den steroidbildenden Organen produzierten Oestrogene als "natürliche Oestrogene" im Gegensatz zu synthetischen Oestrogenen und nichtsteroiden oestrogenen Wirkstoffen anderer Herkunft. Auch der Name "Follikelhormon" ist nicht mehr vertretbar. Aus dem Follikelsaft wurden nicht nur Oestrogene, sondern auch Androgene und Gestagene isoliert. Andererseits finden wir die als Follikelhormon bezeichneten Oestrogene auch in der Plazenta, Nebenniere und im Hoden.

Oestriol stellt den Hauptteil der Plazentahormone dar. Es wurde erstmals von BROWNE (81) isoliert. WESTERFELD (82) wies Oestron nach, HUFFMAN, THAYER und DOISY (83) fanden Oestradiol. Alle drei Hormone, vor allem Oestriol, erscheinen in den letzten Wochen der Schwangerschaft im Urin der Frau.

Die Produktion von Oestrogenen aus NNR-Gewebe konnte an verschiedenen Tierarten bewiesen werden. MARRIAN und LOKE (84) isolierten nach Inkubation von Oestron mit Rinder-NNR-Homogenaten 18-Hydroxyoestron, das auch bisher nur in NNR gefunden werden konnte. Seine Bildung wird auch in der menschlichen NNR angenommen. Es wird vermutet, daß die menschliche NNR neben Oestron auch C 11- und C 18-hydroxylierte Oestrogene zu produzieren vermag.

Daß auch in den Testes Oestron, 17 β -Oestradiol und Oestriol vorkommen, konnte DICZFALUSY (85) im menschlichen Sperma durch Gegenstromverteilung in verschiedenen Lösungsmitteln nachweisen. BEALL (86) isolierte Oestron und 17 β -Oestradiol, GOLDZIEHER und ROBERTS (87) fanden in menschlichen Hodenextrakten vor allem Oestradiol. Ob die Oestrogene vorwiegend im Keimepithel (88, 89) oder in den Leydigischen Zwischenzellen (90, 91, 92) gebildet werden, ist noch nicht geklärt.

D) Biogenese:

Auch über die Entstehungsweise der Oestrogene bestehen heute noch verschiedene Ansichten: Während RABINOWITZ (93) 17 β -Oestradiol in Testishomogenaten nach Gabe von markiertem Acetat fand, meinen LEACH, MADDOCK und NELSON (94), daß 30 - 50 % der Oestrogene beim Mann aus Androgenen, 50 - 70 % direkt aus den Leydigischen Zwischenzellen entstehen.

Auch beim Ovar erwies sich der Analogieschluß vom Tier zum Menschen als gute Arbeitshypothese. Mc CORQUODALE (77) isolierte Oestradiol, WESTERFELD und DOISY (95) Oestron aus Schweineovarien. Der erste biologische Nachweis an menschlichen Ovarien gelang ASCHHEIM und ZONDEK (96) mit einem positiven Allen-DOISY-Test. Die menschliche Follikelflüssigkeit enthält vor allem Oestron und Oestradiol, wie HEUSGHEM (97) papierchromatographisch und SMITH und SMITH (98) durch ihre Trennungungsverfahren nachweisen konnten. 17 β -Oestradiol und Oestron wurden auch von DICZFALUSY, ZANDER und GEZELL (99) nachgewiesen, während Oestriol in menschlicher Follikelflüssigkeit nicht gefunden wurde. Daß die Corpora lutea große Hormonmengen produzierten, wiesen ALLEN und Mitarbeiter (100) nach. Sie stellten einen Abfall vom 22. Cyclustage an fest, während ZANDER u.a. (101) auch in der zweiten Cyclushälfte Oestrogene aus den Corpora lutea isolierten.

RABINOWITZ (102) erklärte die Entstehung der Oestrogene auch beim Ovar über Acetat. Er inkubierte radioaktiv markiertes Acetat in Ovarialhomogenaten von Hunden und konnte 17 β -Oestradiol gewinnen. Zu den gleichen Ergebnissen kamen LEVITZ, CONDON u. DANCIS (103), die aus markiertem Acetat in durchtränkter menschlicher Plazenta die Bildung von Oestron und Oestradiol beobachteten. Die Biosynthese von Oestron, Equelin und Equilenin aus 14-C-Acetat konnte selbst in vivo bei trächtigen Stuten nachgewiesen werden (104). Da in Tierversuchen eine Umwandlung von Cholesterin-4-¹⁴C in Oestron nicht gelang, nahm man an, daß Cholesterin keine Oestrogenvorstufe sei.

NATHANSON und TOWNE (105) aber konnten in vivo und in vitro Oestron und Oestradiol aus markiertem Testosteron gewinnen. Nach ENGEL (106) werden in vivo etwa 1 % der Androgene in Oestriol, Oestron und Oestradiol umgewandelt. MEYER (107) nahm ein 19-hydroxyliertes Zwischenprodukt an, nachdem bewiesen war, daß 19-Hydroxy-delta-4-Androsten-3-17-dion ohne weiteres in Oestron übergeht.

Wenn C-19-Steroide Vorstufen der Oestrogene sind, so muß auch das Cholesterin in Androgene bzw. Oestrogene überführbar sein. WERBIN, PLOTZ u.a. (108) konnten diese Vermutung beweisen: Sie applizierten einer Frau 38 mg 3-¹⁴C-Cholesterin und wiesen später radioaktives Oestron nach. Auch HÖGBERG (109) und DICZFALUSY (110) bewiesen die Oestrogenbildung aus Cholesterin in Kaninchen- und Rattenovar. Es ist heute bekannt, daß neben dem Ovar auch NNR und Plazenta zu dieser Synthese befähigt sind, während die Produktion in der Leber auf schon vorhandenen Corticosteroiden beruhen soll.

Daß auch Progesteron über cholesterinähnliche Vorstufen aus Acetat gebildet wird, bewiesen die Ausscheidungen trächtiger Suten nach 1-¹⁴C-Acetatgaben. Andererseits konnte FURUHJELM (111) bei kastrierten Frauen nach Progesteroninjektion eine erhöhte Oestrogenausscheidung feststellen.

Nach DICZFALUSY und LAURITZEN (112) entstehen Oestrogene entweder unmittelbar aus Acetat bzw. Acetyl-Coenzym A, oder sie werden über Cholesterin, Progesteron oder über Androgene als Zwischenstufen gebildet.

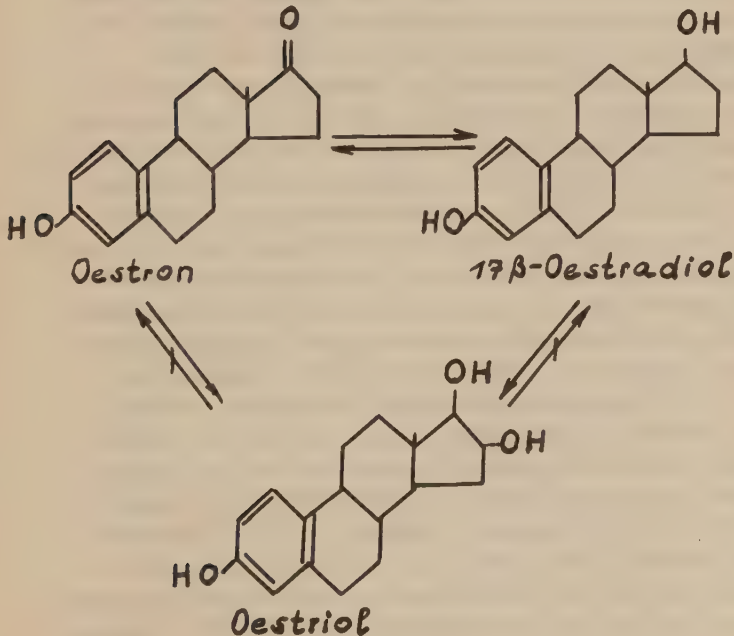
Die Biogenese direkt aus Acetat und über Cholesterin soll quantitativ am wichtigsten sein.

E) Metabolismus

Weniger aufgeklärt ist bis heute der Metabolismus der Oestrogene. Es ist bekannt, daß Oestron und 17 β -Oestradiol fast überall im tierischen und menschlichen Körper ineinander umwandelbar sind. In der Leber erfolgt der

Oestradiolabbau leichter als die Hydrierung der 17-Ketogruppe. TOMKINS (113) konnte aus Säugetierleber 17 β -Dehydrogenase gewinnen, die bisher aus tierischen und menschlichen Geweben nicht isoliert wurde. Die Wirkung des Fermentes ist abhängig von Diphosphopyridinnucleinsäure (DPN) als Wasserstoffacceptor. Nebennieren- und Hodengewebe vermögen vor allem, Oestron in Oestradiol überzuführen, wie RYAN (114) nachwies. HELLER (115) bezeichnete diese Umwandlung als ersten Schritt im Oestrogenabbau. Injektionsversuche zeigten, daß beide Hormone zu Oestriol umgewandelt werden können, während Oestriole im Organismus nicht wieder in 17 β -Oestradiol oder in Oestron überführbar sein sollen.

DICZFALUSYs klassisches Umwandlungsschema macht das Gesagte deutlich:



17 β -Oestradiol und Oestron werden als primär im Körper gebildete Oestrogene bezeichnet. Ihre reversible Umwandlung und die Überführung in Oestriol wurde oft nachgewiesen. Unter "Oestriol-lag" versteht man dabei die verspätete Oestriolausscheidung nach Injektion von 17 β -Oestradiol und Oestron.

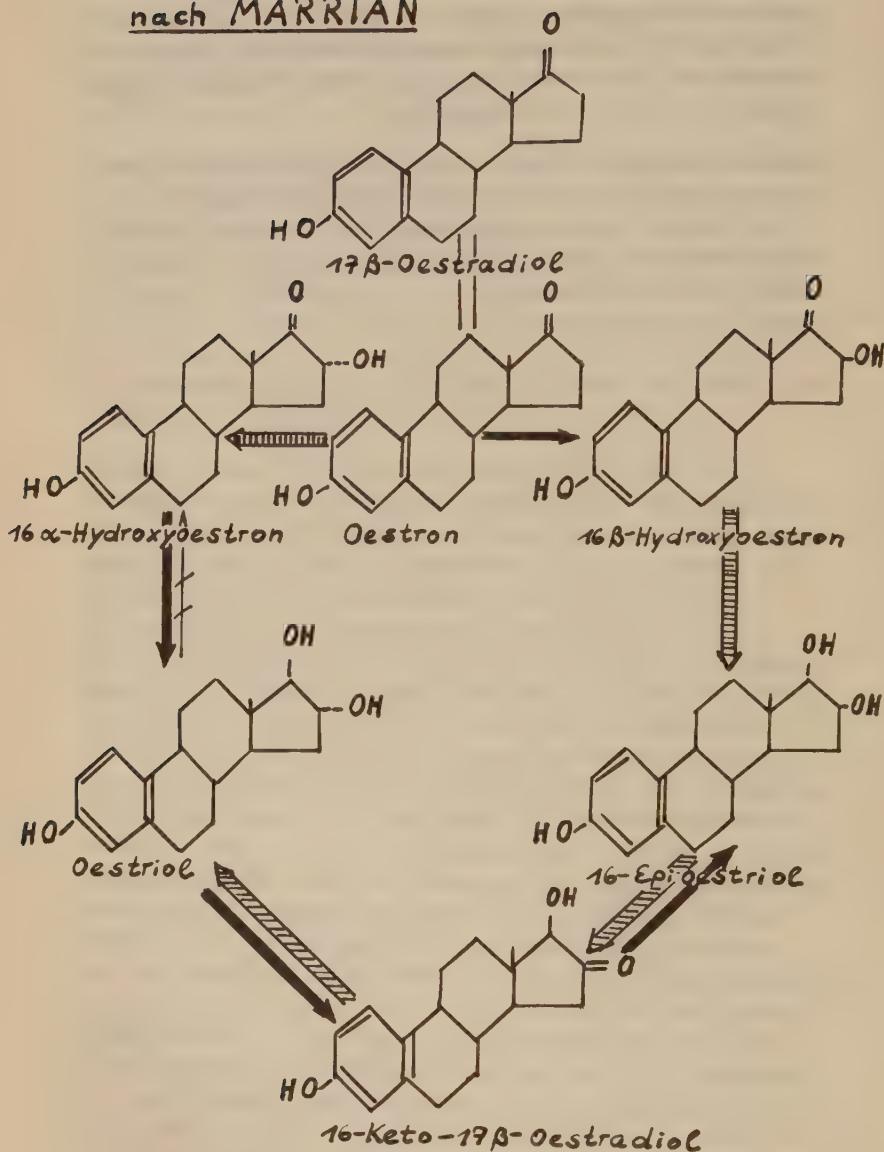
Selbst dem fötalen Organismus ist ein Oestrogenstoffwechsel möglich. So konnten ENGEL u. Mitarb. (116) nach Inkubation von fetalen Leberschnitten mit radioaktivem 17 β -Oestradiol Oestriol gewinnen. TROEN (117) wies bei Plazenta-Perfusionsversuchen mit 17 β -Oestradiol Oestriol nach, das in der Plazenta wahrscheinlich auch selbständig gebildet werden kann. Ob 17 β -Oestradiol direkt zu Oestriol hydroxyliert wird oder ob die Reaktion über Zwischenstufen abläuft, ist noch nicht entschieden.

BREUER und Mitarb. (118) bewiesen, daß Oestriol aus 16 α -Hydroxyoestron, aus 16-Ketooestron und aus 16 Keto-17 β -Oestradiol gebildet werden kann. Neben Oestriol entsteht aus dem 16-Keto-17 β -Oestradiol 16-Epioestriol. Die Verbindungen stehen nach LEVITZ u.a. (119) in einem Gleichgewicht, das zugunsten des Oestriols verschoben ist. Man nimmt an, daß Oestriol, das als ein Stoffwechselendprodukt bezeichnet wurde, doch sehr bald weiter verändert wird. Versuchspersonen, denen Oestriol gegeben worden war, schieden 16 Keto-17 β -Oestradiol aus. Dagegen scheint eine Oxydation zu 16-Hydroxyoestron nicht oder nur in geringem Maße möglich zu sein. Die Untersuchungen von BREUER ergaben, daß 16 β -Hydroxyoestron zunächst und überwiegend in 16-Epioestriol reduziert wird. Aus 16 α -Hydroxyoestron kann sowohl Oestriol als auch 17-Epioestriol entstehen. 16 α -Hydroxyoestron und 16 β -Hydroxyoestron sind in 16-Keto-17 β -Oestradiol umwandelbar. Das 16-Keto-Oestron spielt eine bedeutende Rolle als Zwischenprodukt zwischen Oestron und Oestriol, wie HUFFMAN u. GROLLMAN (120) bereits 1947 annahmen. STIMMEL u.a. (121) bewiesen ein Jahr später diese Vermutung. Sie applizierten einem Mann große Mengen 16-Keto-Oestron und wiesen Oestriol nach. Die zentrale Stellung des 16-Ketooestrone im 17 β -Oestra-

diolstoffwechsel ergab sich auch aus den Versuchsergebnissen von MIGEON u. Mitarb. (122). In der Glucuronosidfraktion des Harns fanden sie nach (16 ¹⁴-C) Oestrongaben mit Hilfe papierchromatographischer Methoden neben Oestron und 17 β -Oestradiol auch 16-Keto-Oestron, 16-Epi-Oestriol, 16 Keto-17 β -Oestradiol.

Über die Entstehung des 16-Keto-Oestrone und seine metabolische Reduktion zu Oestriol existierten noch keine einheitlichen Veröffentlichungen. Auch sind nach BEER (123) etwa 50 % aller Oestrogenabbauprodukte im Harn heute noch unbekannt.

nach MARRIAN



- nachgewiesene Reaktionen
- wahrscheinliche Reaktionen (unbewiesen)
- nicht vorkommend

Andererseits konnte schon ZONDEK (124) durch Inkubationsversuche mit Lebergewebe zeigen, daß bekannte Oestrogene nicht mehr nachweisbar waren.

Mehr als die Hälfte der Oestrogene werden vermutlich in nichtphenolische Metabolite umgewandelt, denen nach BREUER u. Mitarb. (125) die für Phenole charakteristische Lichtabsorption verlorengegangen ist. Die Inaktivierung der Oestrogene kann, wie wir heute wissen, durch Hydroxylierung, Konjugierung und Proteinbindung erfolgen. JELLINCK (126) nimmt außerdem eine Aufspaltung des phenolischen Ringes A an, der vorher am C₂ hydroxyliert worden war.

Bei allen Inaktivierungsvorgängen ist die Leber entscheidend beteiligt. Die Hydroxylierung von 17 β -Oestradiol in Oestron erfolgt hauptsächlich in der Leber. LIEBERMANN et al (127) haben nachgewiesen, daß 1500 g menschliche Leber 11,5 g 17 β -Oestradiol pro Tag zu inaktivieren vermögen. Vermutlich entsteht auch Oestriol vorwiegend in der Leber.

Inaktivierungsvorgänge durch Konjugierung an Schwefel- oder Glukuronsäure wurden von LETHINEN (128) und DICZFALUSY (129) im Magendarmtrakt nachgewiesen. DICZFALUSY (130) fand nach intrajejunalen Oestriolapplikation konjugiertes Oestriol im abführenden Venenblut. Einer Patientin mit totaler Gallenfistel verabreichte man Oestriol ins Duodenum und beobachtete die Zunahme konjugierten Oestriols. Neben der intestinalen Oestrogenkonjugierung sollen nach ZONDEK (131) Niere und Milz zu chemischer Bindung an Schwefel- oder Glukuronsäure fähig sein, während DICZFALUSY im Lungengewebe menschlicher Feten Oestrogene in konjugierter Form nachweisen konnte.

Den Hauptanteil an allen Konjugierungsvorgängen aber hat die Leber. Während die Zellkerne und Mitochondrien an diesen Funktionen wenig beteiligt sind, erkannte man, daß Leberhomogenat vorwiegend zur Glukuronosidsynthese fähig ist und daß sich ein Enzymsystem für die Sulfatkonjugierung in der überstehenden Flüssigkeit nachweisen läßt. ONESON und COHEN (132) sowie GRANT und BEALL (133) bezeichneten Glucuronoside und Schwefelsäure (Sulfate) als

die bedeutendsten Oestrogenkonjugate, die bei Anwesenheit von Glykogen, Laktat und Pyrovat entstehen. Obwohl COHEN und ODELL (134) beim Menschen bisher nur Oestriol-Glucuronosid als Natriumsalz nachweisen konnten, nehmen sie nach neueren Untersuchungen eine Konjugierung von Oestron, 17 β -Oestradiol und Oestriol an Glucuronoside und Sulfate an. Die Glucuronosidbindung soll für die Ausscheidung im Harn quantitativ am bedeutendsten sein; sie steigt während der Schwangerschaft im Urin stärker an als die Sulfatbindung (135). Daß noch andere Konjugierungsmöglichkeiten bestehen, ist wahrscheinlich. So vermuten OERTEL und EIK-NES (137) z.B. Phosphorsäurekonjugate im strömenden Blut; MENINI u. DICZFALUSY (137) isolierten aus menschlichem Mekonium zwei verschiedene Oestriolkonjugate. Da aber der größte Teil der Oestrogene in den Faeces in freier Form vorliegt, nahmen SANDBERG und SLAUNWHITE (138) an, daß die Konjugierungen im Darm gelöst werden. Die freien Steroide werden von der Darmwand reabsorbiert, in der Leber konjugiert und damit wasserlöslich und harnfähig. Es besteht ein enterohepatischer Kreislauf über Leber-Galle-Darm-Leber, den CANTEROW und Mitarb. (139) experimentell nachweisen konnten. 50 % der Oestrogene erscheinen in der Galle von Fistelpatienten; nur 7 % gehen bei Patienten ohne Gallenfistel in freier Form mit den Faeces verloren. 80 % werden mit dem Harn ausgeschieden, wie SANDBERG und SLAUNWHITE (138, 140) mit 14-C-markiertem Oestron und Oestradiol zeigten. Die Leber sammelt die Oestrogene aus der Blutzirkulation, um sie dann erneut mit der Galle auszuschcheiden.

Während des Transportes im Blut und in der Leber wird eine Bindung der Oestrogene an Lebereiweiß angenommen. Die physiologische Bedeutung der Oestroproteinbindung in der menschlichen Leber ist noch nicht restlos geklärt. Nach BOETTIGER (141) soll dadurch eine bessere Verteilung der Oestrogene im Körper erfolgen und ein Schutz gegen enzymatische Einwirkung gewährleistet sein.

Wahrscheinlich stellen die Oestroproteine außerdem ein ständig verfügbares Hormondepot dar.

Daß die Leber nicht nur Oestrogene zu inaktivieren vermag,

sondern auch zu biologischer Aktivierung fähig ist, zeigt die Umwandlung des Oestrone zu Oestriol. Die Metabolisierung von Androgenen zu Oestrogenen wurde schon erwähnt; quantitativ scheinen diese "Prooestrogene" für die Oestrogenbildung nicht entscheidend zu sein.

Bei einer Leberschädigung fällt vor allem der Verlust des Inaktivierungsvermögens auf, wie TALBOT (142), TWOMBLY u. TAYLOR (143) im Tierexperiment mit Tetrachlorkohlenstoff zeigten. Die gleichen Ergebnisse erzielten SEGALOFF (144), SCHILLER u. PINCUS (145) nach Unterbindung der Gallengänge oder partieller Hepatektomie.

Neben einer vermehrten Oestrogenausscheidung beschrieben BURROWS u.a. (146) eine Gewichtszunahme der Leber, die durch Hypertrophie der Zellen und Wassereinspeicherung erfolgen soll.

F) Wirkungsmechanismen:

Nach Oestrogenapplikation wird die Cholesterinsynthese in der Leber gehemmt; im Extremfall resultiert Verfettung des Organs. Eine erhöhte Glykogenspeicherung und eine Steigerung der β -Glukuronidase-Aktivität wurden als typische Oestrogeneffekte beschrieben. Im Tierversuch wurde nachgewiesen, dass Oestrogengaben einen proliferierenden Einfluss auf Epithelien haben. Diese Tatsache beruht auf einer besseren Durchblutung der Gewebe. Wegen ihrer hyperämisierenden und proliferierenden Wirkung werden die Oestrogene allgemein als Wuchsstoffe bezeichnet. Bekannt ist der günstige Einfluss auf die Wundheilung, den TAYLOR, DITTMER und POTTER (147) beschreiben. ALBERS (148) und NOTARIO (149) geben an, dass nach parenteraler Applikation von Oestradiol eine Erhöhung der Acidität im Magen nachzuweisen sei. RAPP u.a. (150) dagegen konnten in ihren Versuchen diese Beobachtung nicht bestätigen.

Bei der Behandlung jeglicher Durchblutungsstörungen wurden Oestrogene immer wieder mit Erfolg angewandt. PARADE (151) beschrieb Heilung des Magenulkus und der Atrophie der Magenschleimhaut.

Nach Aufträuflern von Oestrogenen oder ihrer Derivate

auf eine ernährungsgestörte Darmschlinge erzielten Chirurgen mitunter eine rasche Besserung der Durchblutung, so daß Resektionen nicht nötig wurden.

Der starke Einfluß auf die Zellteilung bzw. auf die Proliferation wurde überall im menschlichen und tierischen Körper an den Epithelien, Drüsen und der Muskulatur beobachtet. Die Oestrogene scheinen vermehrt biogene Amine freizusetzen, die Hyperämie und Entstehung von interstitiellen Oedemen verursachen, wie REYNOLDS (152) nachwies.

Daß die primären und sekundären Geschlechtsorgane besonders empfindlich auf Einwirkung von Oestrogenen reagieren, ist eine heute noch ungeklärte Tatsache. Man vermutet unterschiedliche Durchblutung der Organe, verschiedene Enzymkonzentrationen oder sogar "spezifische Enzymsysteme". Nach ^{131}J -17 β -Oestradiolgaben fanden ALBERT u.a. (153) bei Ratten die höchsten Konzentrationen in Leber, Niere, Bindegewebe und Haut. Eine selektive Vermehrung der Oestrogene in den Sexualorganen konnte nicht nachgewiesen werden. Dennoch ist dort die Wirkung am deutlichsten: Bereits während des Fetallebens kommt es unter dem Einfluß plazentarer Hormone zu Proliferation des Vaginalepithels, Wachstum des Ovars, der Cervix uteri und der Brüste. Obwohl sich bei männlichen Feten in der letzten Zeit der Gravidität Testes und Prostata etwas verkleinern, kommt es durch hohe Oestrogengaben doch niemals zur Geschlechtsumkehr. Mitunter wurden Blutungen aus der Scheide beim weiblichen und Sekretion der Milchdrüsen beim weiblichen und männlichen Neugeborenen beobachtet. Diese Oestrogenentzugsserscheinungen nennt NEUKOMM (154) "Genitalkrise des Neugeborenen", die durch Oestrogengaben ausbleiben.

Während der ersten acht bis zehn Lebensjahr verändern sich die Sexualorgane nur wenig. Das Pubertätsalter beginnt mit Heranreifen der Ovar-Follikel und der vermehrten Oestrogenbildung.

Am auffälligsten sind die Veränderungen am Uterus, der nach HOHLWEG (155) schon dann deutlich an Größe zugenommen hat, wenn im Vaginalabstrich noch keine Veränderungen festzustellen sind. Die Gewichtszunahme des Uterus erfolgt durch Hypertrophie und Hyperplasie der Muskelfibrillen und durch eine vermehrte Durchblutung. SPAZIANI und SZEGO (156) nehmen an, daß die Freisetzung biogener Amine durch Oestrogene zu Wasserretention im interstitiellen Gewebe führt.

Die zu Beginn des Zyklus noch flache, atrophische Schleimhaut zeigt bald eine Differenzierung in Basalis und Funktionalis. Durch zunehmende Hormonsekretion des reifenden Follikels kommt es zur Proliferation des Endometriums bzw. der Funktionalis. Die Drüsenschläuche wachsen von der Basalschicht ausgehend zunächst gestreckt. Etwa vom 10. Zyklustage an beginnen sie sich zu schlängeln. Auch die Arterien schlängeln sich unter gleichzeitiger Progesteronwirkung und bilden unter der Epithelschicht ein dicht verzweigtes Kapillarnetz aus. Eine maximale Durchsaftung der Schleimhaut ist durch extreme Weitstellung und vermehrte Durchlässigkeit der Gefäße gewährleistet.

Die großen Follikelhormonmengen bewirken zur Zeit der Ovulation bei weiblichen Tieren artspezifische Brunsterscheinungen, die meist mit Schwellung und Rötung des äußeren Genitals einhergehen. So beschreibt KUN (157) fahrige Bewegungen, heftiges Zittern der Ohren und den sog. Lordosereflex beim Rattenweibchen.

Auch das äußere Genitale der geschlechtsreifen Frau zeigt vermehrte Durchblutung und Turgeszierung. Oberflächliches Verhornen nach Schichtung des Scheidenepithels und Glykogeneinlagerung sind typische Oestruszeichen. Aus dem Glykogen der Epithelien vermögen die DÖDERLEIN-Bakterien Milchsäure zu bilden, die ein saures pH der Scheide verursacht. Das alkalische Milieu der Cervix und des Uterus wird durch einen von den Cervixdrüsen gebildeten Schleimhautpfropf erhalten. Auffällig ist auch die Vergrößerung der Labia minora. Neben einer verstärkten Pigmentierung kommt es zur vermehrten Drüsentätigkeit der kleinen Schamlippen.

Die Oestrogene bewirken in den Mammæ Bindegewebs- und Fetteinlagerung und Heranreifung der Milchgänge. Das Alveolarsystem wird erst durch Progesteronzufuhr beeinflusst, die zum Zeitpunkt des Follikelsprunges beginnt. Nach DICZFALUSY (158) wird "in der Corpus-luteum-Phase die immer noch hohe Oestrogenwirkung von den Progesteroneffekten überlagert", die aber ohne Oestrogene gar nicht möglich wären. Die Oestrogene bereiten das Endometrium, das Milchgangsystem der Mammæ usw. erst für die Einwirkung des Gelbkörperhormons vor; sie üben eine permissive Wirkung auf Progesteron aus (159). Das synergistische Wirken beider Hormone erfolgt bis zu einer bestimmten Relation. So konnten KAISER (160), LONG und BRADBURY (161) zeigen, daß das optimale Verhältnis für den Aufbau einer Sekretionsschleimhaut oder für die Erhaltung einer Dezi-dua graviditatis von Oestrogen zu Progesteron bei 1:5 bis 1:20 liegt. Erhöhung einer der beiden Hormonkomponenten hat Hemmung der anderen zur Folge. Bei einem Oestrogen-Progesteron-Verhältnis über 1 : 75 verschwindet der Oestrogeneffekt.

Während durch plötzlichen Hormonentzug zu jeder Zeit des Cyclus eine Entzugs- oder Abbruchblutung eintreten kann, sinkt vor beginnender Menstruation der Ovarialhormonspiegel ganz allmählich. Dadurch wird, wie MANNHEIMER (162) und BARTELEMEZ (163) beschreiben, daß Endometrium nicht mehr genügend durchblutet. Vasokonstriktorische Stoffe werden im Gewebe frei, die Gefäß-Spasmen verursachen. In rascher Folge wechseln Verengerung und Erweiterung der Gefäße; es kommt zum Stillstehen der Blutsäule und zur subepithelialen Blutung. Die eigentliche Menstruation ist eine Blutung per rhexin, die durch Abstoßung der Funktionalis entsteht. Dabei ist nicht bekannt, wie hoch bzw. niedrig der absolute Hormonspiegel liegen muß, um eine Blutung auszulösen. Der Abfall der Sexualhormone führt zu einer vermehrten Gonadotropinbildung und -ausscheidung durch die Hypophyse. Nach DICZFALUSY (164) besteht "zwischen der Menge der von den Gonaden abgesonderten Keim-

drüsenhormone und dem Betrag der vom Hypophysenvorderlappen sezernierten Gonadotropine ein funktionelles Gleichgewicht", das als "Rückkopplungs-" oder "feed back-Effekt" bezeichnet wird.

Wie WERTH (165) nachwies, sollen kleine Oestrogengaben die Hypophyse anregen, während größere Dosen nach anfänglich vermehrter Sekretion die Gonadotropinausscheidung bis auf Nullwerte senken können.

FAUVET (166), JEFFCOATE (167) und MAYOR (168) beschrieben bei hohen Oestrogenkonzentrationen vor allem eine verminderte Bildung des Laktationshormons. Erst nach Ausscheidung der plazentalen Oestrogenmengen fällt die Produktionszügelung weg.

Auch die Bildung des somatotropen Hormons (STH) und des thyreotropen Hormons (TSH) wird durch Oestrogene gehemmt. Es kommt zum vorzeitigen Epiphysenfugenschluß und damit zum frühen Wachstumsstillstand und außerdem zur Gewichtsabnahme aller inneren Organe. Lediglich bei der NNR führt Oestrogenzufuhr zur Hypertrophie mit verbreiteter Zona glomerulosa und fasciculata, die wahrscheinlich auf vermehrter ACTH-Produktion der Hypophyse beruht.

ROSENMAN, FRIEDMAN u. BYERS (169) konnten in Tierversuchen nachweisen, daß die Cholesterinbildung in der Leber durch Oestrogene gezügelt wird. Die Umwandlung des Cholesterins in Androgene bzw. Oestrogene ist heute bewiesen. Oestrogenzufuhr führt damit zu einer verminderten Steroidausscheidung und erst reaktiv zu einem Anstieg der NNE-Hormone.

Wie REISS und MARX (170) beobachteten, senken Oestrogene erhöhte Blutkalkwerte, die aber nach längerer Oestrogenzufuhr langsam wieder ansteigen.

Auch der Blutzuckerspiegel wird durch Oestrogene erniedrigt. BURROWS (171), HOFFMANN (172) u.a. konnten in Tierversuchen durch Oestrogenzufuhr einen experimentell hervorgerufenen Diabetes sanieren. Sie vermuten eine erhöhte Insulinwirkung, die durch Hemmung des somatotropen Hypo-

physenhormons und dadurch bedingter β -Zellen-Stimulation des Pankreas entstehen soll. Auch beim Menschen sind mitunter gute Erfolge bei der Behandlung des hypophysären und Altersdiabetes, aber auch des jugendlichen Diabetes erzielt worden, wie Mc CULLAGH, BECK u.a. (173) beschreiben. Wahrscheinlich spielt auch die Glykogenspeicherung in der Leber und in der Muskulatur eine Rolle, die durch Oestrogene ansteigt.

Zusammenfassend kann man also sagen, daß die Oestrogene bei weitem nicht nur auf die primären und sekundären Geschlechtsorgane einwirken, sondern überall im tierischen und menschlichen Organismus von entscheidender Bedeutung sind.

Auf dem Blutwege werden sie zu den Erfolgsorganen transportiert. SANDBERG und SLAUNWHITE (174), MIGEON et al (175) konnten mit radioaktiv markierten Oestrogenen zeigen, daß anfänglich besonders die Erythrozyten Träger der Hormone sind, später aber auch im Plasma hohe Radioaktivität nachweisbar ist.

3.) EXPERIMENTELLER TEIL

A) Einführung zu den Tierexperimenten

Die heutigen Erkenntnisse über die Physiologie und Biochemie der Sexualhormone wurden zum großen Teil durch tierexperimentelle Untersuchungen gewonnen.

Es wurden besonders die Nagetiere - Maus, Ratte, Meer-schweinchen und Kaninchen - immer wieder als Laborato-riumstiere verwendet. Oft gelang es, analog den Tier-versuchen auf gleiche oder ähnliche Verhältnisse beim Menschen zu schließen; die Ergebnisse des Tierexperi-mentes erwiesen sich häufig als ausgezeichnete Arbeits-hypothese.

Dennoch sind die Speziesunterschiede in der Hormonwir-kung so groß, daß die an den Tieren gewonnenen Beobach-tungen nicht immer ohne weiteres auf den Menschen über-tragen werden dürfen. Nach DICZFALUSY (1976) erlaubt erst die Bestätigung am Menschen Verallgemeinerung der Theo-rien und Anwendung auf den Menschen.

Es ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, über die Ver-teilung von markiertem 17β -Oestradiol im Gewebe weib-licher kastrierter Ratten zu verschiedenen Zeiten nach i.v.-Applikation mit Hilfe autoradiographischer Nachweis-methoden eine Aussage zu machen.

Da sich labortechnisch die Gelegenheit ergab, wurden gleichzeitig elektrophoretische Plasmaanalysen ausgewer-tet.

Die Versuche wurden an insgesamt 32 reinerbigen weibli-chen Albinoratten durchgeführt, die aus der Versuchstier-anstalt "Imanowas" in Kisslegg/Allgäu stammten. Während der Aufzucht mit Latz-Standard-Diät wurde auf gleiche Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse in den Stallun-gen geachtet. Bei einem durchschnittlichen Alter von 100 Tagen und einem mittleren Gewicht von 180 - 200 g wurde bei allen Tieren eine beidseitige Oophorektomie von dorsal vorgenommen. Die Ratten erholten sich sehr bald von dem operativen Eingriff. Nach ca. 10 Tagen inji-

zierten wir jedem Tier eine einmalige Dosis von 100 μ g 17 β -Oestradiol in die dorsale Schwanzvene. Das Hormon war mit Tritium nach dem WILZBACH-Verfahren markiert worden.

B) Markierung des 17 β -Oestradiols mit Tritium:

Die grundlegende Bedeutung der Tracer-Methoden mit Hilfe radioaktiver Isotope in der klinischen Anwendung und im Tierversuch ist längst bekannt.

Seit einigen Jahren ist Tritium (T, ^3H) zu Markierungszwecken mehr und mehr in den Vordergrund getreten. Es kann in großen Mengen im Uran-Kernreaktor durch die ^6Li (n, α) ^3H -Reaktion gewonnen werden (177). Seine physikalische Halbwertszeit beträgt 12,4 Jahre und seine β -Energie liegt zwischen E_{max} 0,0175 und 0,0194 MeV (mittlere Energie bei 0,006 MeV) (178, 179). Verbesserte Meßmethoden gestatten selbst die Verwendung physiologischer Dosen der mit Tritium markierten Verbindungen.

Bei der Markierung handelt es sich um Substitution von H - Atomen mit Tritium.

Unser 17 β -Oestradiol wurde nach der von WILZBACH (180) angegebenen Gasaustauschmethode titriert.

Die Markierung nach der Gasaustauschmethode erbrachte folgende spezifische Aktivitäten:

Spez. Aktivität/mg einschl. labiles ^3H	1,053 mC
Spez. Aktivität/mg ohne labiles ^3H	0,117 mC
Spez. Aktivität in mM (181)	32,6 mC/mM

Vor der Anwendung des markierten Hormons im Tierversuch erfolgt die Prüfung der Substanz auf Reinheit.

Die biologischen und chemischen Eigenschaften dürfen

durch die Etikettierungsprozedur und die Strahleneinwirkung nicht beeinträchtigt worden sein. TOLBERT und LEMMON (182) wiesen nach, daß der Zeitfaktor für die Molekülzerstörung durch das radioaktive Isotop entscheidend ist. Papierchromatographisch zeigte das markierte 17 β -Oestradiol die gleichen Eigenschaften wie das nicht-markierte Kontrollhormon.

C) Papierelektrophoretische Untersuchungen an Rattenserum

Die Methode der Papierelektrophorese hat zur Trennung von Molekülen und Ionen eine große Bedeutung erlangt. Sie beruht im Prinzip auf der unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeit der Moleküle eines zu analysierenden Gemisches. Die Moleküle werden auf einem saugfähigen Papierstreifen mit Hilfe eines Lösungsmittels von der Kathode zur Anode transportiert.

Nach einer bestimmten Laufzeit, nach Trocknen und Färben des Filterpapiers werden die aufgetrennten Anteile mit Hilfe physikalischer oder chemischer Reaktionen identifiziert.

Bei unseren Serumanalysen wurde die quantitative Verteilung von Radioaktivität in den einzelnen Fraktionen gemessen.

Die jedem Tier applizierte tritiummarkierte 17 β -Oestradiol-Menge von 100 μ entsprach bei einer spezifischen Aktivität von 0,0117 mC/mg einer Gesamtaktivität von 11,7 μ C.

Durch Decapitieren wurden die insgesamt 32 Ratten nach folgenden Zeiten post injektionem getötet:

nach 2 Min.	- 5 Tiere
nach 10 Min.	- 5 Tiere
nach 20 Min.	- 1 Tier
nach 1 St.	- 2 Tiere
nach 6 St.	- 5 Tiere
nach 12 St.	- 2 Tiere
nach 24 St.	- 3 Tiere
nach 48 St.	- 5 Tiere
nach 72 St.	- 4 Tiere
= insgesamt	32 Tiere

Das von je einem Tier gewonnene Blut wurde nach kurzer Aufbewahrung im Kühlschrank zentrifugiert und für die Elektrophorese bereitgestellt.

Zur Elektrophorese wurde MICHAELIS-Puffer mit einem pH von 8,6 verwendet.

Der Puffer wurde wie folgt angesetzt:

32,28 g Natriumacetat

49,05 g Veronal

4970 ml Aqua bidest.

30 - 35 ml n-HCl

(1000 ml Pufferlösung mit 250 ml Wasser verdünnt)

Es wurde eine Serummengende von 0,005 - 0,007 ml, die etwa 0,35 - 0,70 mg Protein entsprach, zur Auftrennung verwendet.

Nach einer Laufzeit des ELPHOR-Gerätes bei 110 V und etwa 1,5 - 1,8 mA pro Streifen von 13 - 14 Stunden wurden die Streifen in einen Rahmen eingespannt und in gestrafftem Zustand bei 80 - 90° C etwa 30 Minuten getrocknet.

Ein 1 cm breites Längsstück wurde dann von jedem Elektrophoresestreifen abgeschnitten und gefärbt. Für die Anfärbung der Eiweißfraktionen verwendeten wir Amidoschwarz 10 B, das ungefähr 0,5 %-ig mit gebrauchtem Entfärbter hergestellt worden war.

0,5 % (gesättigt) Amidoschwarz 10 B,
gelöst in Entfärberflüssigkeit.

Die Färbezeit dauerte 15 Min.

Die 1 cm breiten Streifen wurden anschließend sofort durch Überlegen in einen jeweils sauberen Entfärber solange behandelt, bis die eiweißfreien Stellen völlig entfärbt waren und der Entfärber keinen blauen Schimmer mehr zeigte.

Der Entfärber bestand aus 90 Teilen Methanol und 10 Teilen Eisessig. Nach Trocknen des Streifenteils wurde der ungefärbte Reststreifen nach den angezeigten Eiweißfraktionen aufgeschnitten.

Vgl. Skizze:

1 ^h A	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	A	gefärbter Teilstreifen ungefärbter Reststreifen
	B.	γ.	β.	α ₂	α ₁	A1b.			

(Wathman-Papier Nr. 1 - Dr. Bender u. Hobein)

In Probe flaschen, die soviel Szintillationsflüssigkeit enthielten, daß das Filterpapierstück völlig bedeckt war, wurden die Aktivitätsmessungen vorgenommen.

Von jeder Serumprobe wurden jeweils drei Elektrophoresen angesetzt.

D) Impulsmessungen im Szintillationszähler:

Der Nachweis von Tritium ist wegen der geringen Zerfallsenergie besonders schwierig. Da sich die bekannten β-Strahler-Meßgeräte als unzureichend erwiesen und das Tritium als Tracer-Isotop immer mehr an Bedeutung gewann, mußten neue Methoden gefunden werden.

Unsere Plasmafraktionen wurden mit Szintillationslösung aus dem Papierstreifen eluiert und die β -Energie durch den gelösten Szintillator in Lichtquanten umgewandelt und gemessen.

Als Leuchtstoffe werden heute Szintillatoren verwendet, die das Lumineszenzlicht unmittelbar auf eine Photokathode einfallen lassen. Die erzeugten Photoelektronen werden in einem mehrstufigen (10 - 13 Dioden) Sekundärelektronenvervielfacher (Photomultiplier) nach einer Gesamtverstärkung von 10^6 - 10^7 in Impulse in mV umgewandelt. Photoelektronen, die bei Zimmertemperatur durch thermischen Rückstoß spontan aus den Kathoden austreten, werden ebenfalls als Impulse registriert. Sie bilden den hohen Untergrund oder Nulleffekt (background), der besonders bei Messung schwacher Intensitäten stört.

Durch Einschalten eines Diskriminators und Kühlen des Vervielfachers werden unterschwellige Impulse unterdrückt und der Nulleffekt erniedrigt.

Die Verwendung eines flüssigen bzw. gelösten Szintillators gewährt die unmittelbare Berührung der Meßproben mit dem Meß-System und eine geringe Selbstabsorption.

Die Szintillationslösung für unsere Messungen war folgendermaßen angesetzt:

4 g PPO (Phenyloxazol)
15 mg POPOP (1,4- Bis (2-5-phenyl-oxazolyl)-benzol)
230 ml abs. Alkohol p.a.
ad 1000 ml Toluol p.a.

15 ml pipettierten wir jeweils in Meßgläser. Die einzelnen Elektrophoresefraktionen wurden in Streifen aufgeschnitten und in Meßgläser gebracht; sie waren völlig von Szintillationslösung bedeckt.

Die Probeflaschen wurden in einen automatischen TRICARB Liquid Szintillations-2-Kanal-Spektromator zur Impulsmessung gebracht.

(Szintillationszähler, Modell EX der Fa. Packard bei Koinzidenzschaltung, HV 1250 V Verstärker max., A 8 Volt, Diskriminator B 50 Volt, mit einem background von 20 Impulsen pro Minute).

E) Meßergebnisse:

Die Aktivität der einzelnen Fraktionen wurde in Impulsen pro drei Minuten bestimmt.

Aus den Messungen wurden nach Abzug des Nulleffektes die Mittelwerte der einzelnen Fraktionen und deren mittlere Abweichung errechnet.

Tötung nach 2 Min. p.i.

5 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 15 Messungen pro Fraktion

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	872	± 70
Globulin α_1	950	± 62
" α_2	1057	± 10
" β	829	± 59
" γ	964	± 23
ges.aufgebr.Aktivität:	4672	

Tötung 10 min. p.i.

5 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 15 Messungen pro Fraktion

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	721	± 65
Globulin α_1	713	± 16
" α_2	908	± 45
" β	789	± 28
" γ	913	± 73
ges.aufgebr.Aktivität:	4044	

Tötung 20 Min. p.i.

1 Tier, drei Elektrophoresestreifen

= drei Messungen pro Fraktion

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	517	± 21
Globulin α 1	429	± 34
" α 2	505	± 19
" β	436	± 48
" γ	450	± 61
ges.aufgebr.Aktivität:	2337	

Tötung eine Stunde p.i.

2 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 6 Messungen pro Fraktion

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	431	± 38
Globulin α 1	386	± 43
" α 2	322	± 57
" β	475	± 35
" γ	473	± 48
ges.aufgebr.Aktivität:	2087	

Tötung sechs Stunden p.i.

5 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 15 Messungen pro Fraktion

Fraktion	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	376	± 33
Globulin α 1	350	± 39
" α 2	370	± 52
" β	363	± 41
" γ	383	± 16
ges.aufgebr.Aktivität:	1842	

Tötung 12 Stunden p.i.

2 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 6 Messungen pro Fraktion

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	500	$\pm$ 25
Globulin α 1	344	$\pm$ 57
" α 2	466	$\pm$ 8
" β	455	$\pm$ 12
" γ	337	$\pm$ 63

ges.aufgebr.Aktivität: 2102

Tötung 24 Stunden p.i.

3 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 9 Messungen pro Fraktion

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	432	$\pm$ 17
Globulin α 1	428	$\pm$ 46
" α 2	322	$\pm$ 28
" β	310	$\pm$ 27
" γ	345	$\pm$ 11

ges.aufgebr.Aktivität: 1837

Tötung 48 Stunden p.i.

5 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 15 Messungen pro Fraktion:

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	482	$\pm$ 23
Globulin α 1	471	$\pm$ 12
" α 2	412	$\pm$ 57
" β	389	$\pm$ 19
" γ	350	$\pm$ 63

ges.aufgebr.Aktivität: 2104

Tötung 72 Stunden p.i.

4 Tiere, von jeder Serumprobe drei Elektrophoresestreifen = 12 Messungen pro Fraktion

Fraktion:	Mittelwerte:	mittlere Abweichungen:
Albumin	300	± 47
Globulin α 1	267	± 43
" α 2	291	± 33
" β	183	± 38
" γ	192	± 41
ges.aufgebr.Aktivität:	1233	

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde der background von 20 Impulsen/Minute bzw. von 60 Impulsen/3 Min. subtrahiert.

F) Beziehungen zwischen Oestrogenen und dem Blut

Der Transport der Oestrogene erfolgt vorwiegend auf dem Blutwege. HARDY, WARD, TURNER und SAMPSON (183) fanden im Ovarial- und Nebennierenvenenblut höhere Oestrogenwerte als in den Venen der Peripherie.

Über die Verteilung und über das Verhalten der Sexualsteroidoide im Blut wissen wir bis heute nur wenig.

Versuche mit radioaktiv markierten Hormonen zeigten während der Blutzirkulation eine höhere Radioaktivität im Plasma, nachdem anfangs die Erythrozyten vorwiegend Träger der Oestrogene gewesen waren. (SANDBERG und SLAUNWHITE (184)).

MIGEON et al. (185) gewannen 14 - 32 % der gesamten Radioaktivität aus den Erythrozyten, deren Hydrolasen konjugierte Steroide zu spalten vermögen. Den Erythrozyten kommt somit neben der Transportfunktion eine große Bedeutung im phenolischen Steroidstoffwechsel zu.

Daß die Oestrogene auch Beziehungen zu den Proteinen haben, bewiesen Blutextraktionen mit organischen Lösungsmitteln. Man nimmt an, daß die schlecht wasserlöslichen Steroide im Serum durch ein Trägereiweiß in Lösung gehalten werden. Während BRUNELLI (186) den Globu-

linen Trägerfunktionen zuschrieb, wiesen ANTONIADES, Mc ARTHUR, PENNELL u.a. (187) Oestrogenaktivität im Albumin und im β -Globulin nach. ROBERTS und SZEGO (188) isolierten bei menschlichen Blutuntersuchungen Oestrogene aus den β -Lipoiden.

Bis heute ist nicht eindeutig geklärt, ob Oestrogene und Proteine chemische Bindungen eingehen, oder ob nur lockere physikalische Bindungen bestehen. LIEBERMAN et al (189) vermuten Beziehungen hydrophiler Oestrogenbestandteile zu freien SH-Gruppen der Proteine. Daß die Leber (vor allem die Rattenleber) bei der Bildung der Oestropoteine entscheidend beteiligt ist, wurde früher schon erwähnt. Möglicherweise sind die Proteinbindungen in der Leber andere als die im Blut. Es wurde auch die Hypothese aufgestellt, daß freie und konjugierte Oestrogenen verschiedene Eiweißbindungen bilden. Nach ROBERTS und SZEGO (190) liegt der Hauptanteil der Oestropoteine in konjugierter Form vor.

Ob diese Proteinbindungen lediglich Transportformen sind oder vor allem als Hormonreservoir dienen, ist noch nicht geklärt. Bei Injektionsversuchen fanden BISCHOFF u.a. (191) nach 15 - 30 Min. ein Oestrogenmaximum im Plasma, das bald wieder abfiel. Dennoch konnten RAKOFF u. SOSNOWSKI (192) noch drei Tage post inject. eine erhöhte Oestrogenkonzentration im Blut nachweisen.

G) Auswertung der Meßergebnisse:

Aus unseren Messungen ergab sich 2 Min. post inject. ein Oestrogenmaximum im Rattenserum. Es wurden nach dieser Zeit insgesamt ca. 4 672 Impulse/3 Min. gemessen, die sich auf die einzelnen Eiweißfraktionen verteilten.

Um diese Aussage beurteilen zu können, war es nötig, die injizierte Impulsrate zu bestimmen, die wir aus entsprechenden Standardverdünnungen ermittelten. Bei einem Durchschnittsgewicht der Tiere von 200 g und der Annahme, daß das Blutvolumen 3,6 % des Körpergewichtes bzw. das Plasmavolumen 2,0 % des Körpergewichtes ausmacht, fanden wir 2 Min. p.a. 33,4 % der Aktivität im Serum.

Ca. 67 % der Aktivität sind nach 2 Min. im Serum nicht mehr nachzuweisen: sie sind entweder an die Erythrozyten gebunden oder bereits in den Erfolgsorganen abgefangen worden.

10 Min. p.i. waren noch 28,6 % der Gesamtaktivität im Serum zu finden, nach 20 Min. waren es noch 15,5 %, nach einer Stunde errechneten wir 13,6 %.

Die Aktivität im Serum blieb nach 6, 12, 24 und 48 Stunden erstaunlich hoch und konstant auf etwa $\frac{1}{3}$ des 2-Minutenwertes. Der 6-Stundenwert und der 24-Stundenwert betrugen ca. 11,8 % der injizierten Aktivität.

Nach 72 Stunden wurde ein deutlicher Aktivitätsabfall gemessen; es waren nur noch 7 % der Ausgangsaktivität nachweisbar.

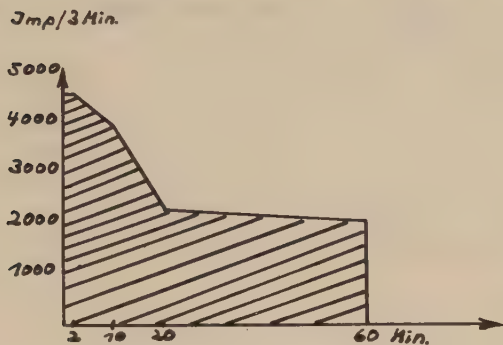
Zusammenfassend könnten die Versuchsergebnisse so gedeutet werden, daß unter der Voraussetzung einer Zuordnung der gemessenen ^3H -Aktivität zum Hormonmolekül das Maximum an Oestrogenen im Blutserum in den ersten zwei Minuten post inject. liegt.

Auch der 10-Minutenwert ist noch sehr hoch; es erfolgt nun ein rascher Hormonabfall während der nächsten 10 Minuten auf etwa 50 % des 2-Minutenwertes.

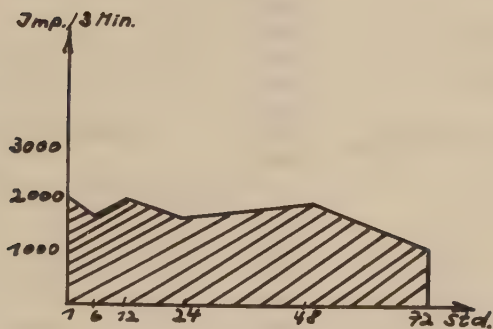
Ein kontinuierlicher Konzentrationsabfall ist bis 6 Stunden p.i. zu beobachten.

Die nach 6 Stunden gemessenen Werte verändern sich nur wenig; die Konzentration im Serum bleibt hoch und etwa konstant bis 48 Stunden p.i.

Der 72-Stundenwert ist wieder deutlich erniedrigt; dennoch sind auch nach 72 Stunden noch 7 % der applizierten Aktivität nachweisbar; das ist etwa 1/5 des 2-Minutenwertes.



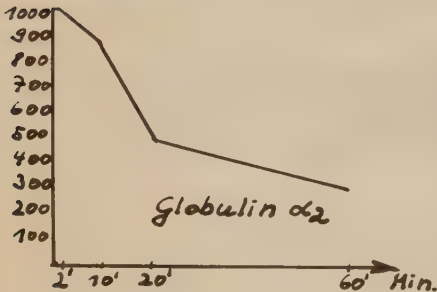
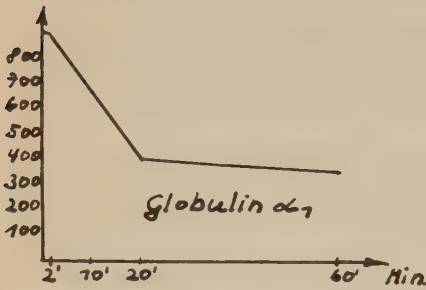
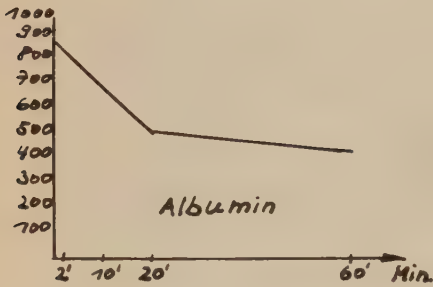
Impulse/3 Min. 2,10,20 und 60 Min. p.inj.



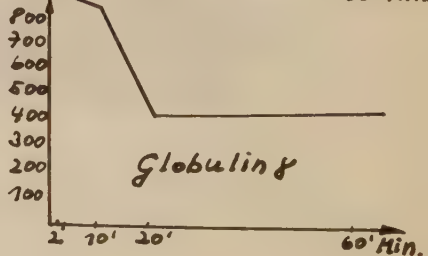
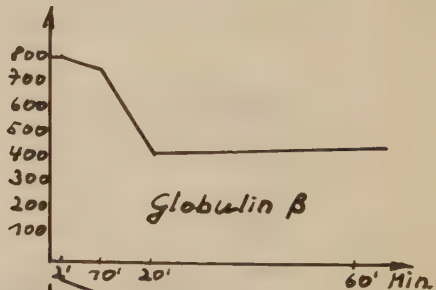
Impulse/3 Min. 1,6,12,24,48 und 72 Std. p.inj.

Unsere Meßergebnisse zeigten diesen Konzentrationsabfall in allen Eiweißfraktionen. Er wurde ebenfalls während der ersten 60 Minuten p.i. besonders deutlich.

Omp./3 Min



Omp./3 Min



Nach unseren Ergebnissen scheinen sowohl die Albumin-, als auch die Globulinfraktionen "Trägerfunktionen" für 17 β -Oestradiol zu haben. Der prozentuale Aktivitätsanteil der Albuminfraktion und der Globulinfraktion waren etwas größer als der Anteil der übrigen Fraktionen, überragte diese aber nur wenig.

H) Autoradiographie

Seit der Entdeckung der Radioaktivität kennt man auch die Autoradiographie, die in den letzten Jahren bei der Messung radioaktiver Isotope unentbehrlich geworden ist.

Während Strahlungsmeßgeräte über die Verteilung einer markierten Substanz im Organismus nur grob Auskunft zu geben vermögen und biochemische Analysen eine Gewebszuordnung außer acht lassen, sind die genauen Lokalisationen im Gewebe und in der Zelle nur noch mit Hilfe der Autoradiographie möglich. Im Prinzip handelt es sich um Belichtung einer strahlungsempfindlichen Emulsion und Sichtbarwerden des latenten Bildes nach photographischer Entwicklung.

Ebenso wie das sichtbare Licht vermögen die α - und β -Strahlen metallisches Silber aus Silberbromidkristallen auszuscheiden. Die reduzierende Eigenschaft der Entwicklerflüssigkeit bewirkt eine Vermehrung der Silbermenge um einen Faktor von $10^7 - 10^8$ und damit eine erfaßbare Schwärzung.

Überentwickelte Filme zeigen störende Schwärzungen außerhalb der Elektronenbahnen. Auch verlängerte Belichtungszeiten, ausgedehnte Aufbewahrungsdauer in zu warmen Milieu erhöhen u.a. den "background" und beeinträchtigen eine scharfe Bildwiedergabe.

Das "Auflösungsvermögen", das als kleinste Differenz zweier gerade noch getrennt wahrnehmbarer Schwärzungen definiert wird, ist umso besser, je dünner Emulsion und histologischer Schnitt sind, je dichter beide aufeinander liegen, je kürzer die Belichtungszeit ist und je kleiner die Silberbromid-Kristall-Granula sind.

Da die β -Strahlen nach allen Seiten gleichmäßig emittiert werden, können zwei punktförmig angenommene Strahlungsquellen auf der Photoemulsion nicht als Bildpunkte erscheinen. Die Schwärzungszentren können nur dann getrennt wahrgenommen werden, wenn ihr Abstand größer ist als die "Halbwertsbreite" der beiden Schwärzungskurven (192).

Wegen seiner niedrigen β -Energie ist Tritium für autoradiographische Untersuchungen besonders gut geeignet. Die geringe Reichweite der β -Strahlen beeinträchtigt nur wenige Silbergranula in unmittelbarer Nachbarschaft der Strahlungsquelle.

Mit einer mittleren Energie von 5,7 keV ($E_{\max} = 18$ keV) vermögen die β -Teilchen nach GRAUL und HUNDESHAGEN (194) bis zu 6 μ Wasser bzw. Gewebe oder 2 μ Filmemulsion zu durchdringen.

Wir verwendeten für unsere histologischen Studien die Organe aller 32 kastrierten Albinoratten, um parallel zu den Blut- bzw. Serumwerten einen Einblick in die Verteilungs- und Anhäufungsverhältnisse des Hormons in den Geweben zu erhalten.

Wir legten die für die Gefrierschnitte vorgesehenen Organe zum Fixieren ca. 12 Stunden in 4 % Formaldehyd. Die so fixierten Rattenhypophysen, -lungen, -herzen, -dick- und -dünndärme, - lebern, - nieren, - milzen, - uteri und -scheiden wurden gut in Leitungswasser gewässert und mit dem Mikrotom geschnitten.

Von jedem Organ wurden wenigstens acht Schnitte angefertigt; die Dicke der Schnitte betrug 3,5 - 5 μ .

Mit Hilfe eines feinen Pinsels wurden die zusammengerollten Schnitte in dest. Wasser gebracht. Sie entfalteten sich und konnten auf vorbereiteten Objektträgern aufgefangen werden.

Die mit einem Äther-Alkohol-Gemisch entfetteten Objektträger wurden auf der Rückseite und den beiden Vorderlängsrändern mit einer Haftflüssigkeit bestrichen. Die Gelatinelösung, die ein gutes Haften des später aufzutragenden Strippingfilmes bewirken sollte, stellten wir selbst her:

0,7 - 0,9 g Gelatine
0,05 - 0,1 g Chromalaun
ad 100 ml aqua dest. bei kleiner Flamme (ca. 37 - 40° C)
unter Rühren auflösen.

Der nur 15 μ dicke Spezialfilm besteht aus einer dünnen Emulsionsschicht, die einer Gelatineschicht als Träger-substanz aufgelagert ist.

Wir verwendeten Strippingfilm AR 10 von Kodak, der auf Glasplatten geliefert wird. Mit einem Skalpell stellten wir maßgerechte Filmstücke her, die wir mit der Emulsionsschicht nach unten auf einer Wasserfläche (Wassertemperatur 20° C) ausbreiteten. Die Objektträger wurden nun unter die Filmstücke getaucht und aus dem Wasser gehoben. Dabei legten sich die Filme den Gefrierschnitten eng an; die überstehenden Filmränder wurden nach den Rückseiten der Objektträger umgeschlagen.

Der enge Kontakt zwischen Film und Emulsion wurde durch den folgenden Trocknungsprozeß verbessert.

Im Vergleich mit anderen autoradiographischen Nachweismethoden hat sich das Stripping-Film-Verfahren nach PELC (195), GRAUL und HUNDESHAGEN (196) wegen seines optimalen Auflösungsvermögens besonders bewährt. Da die Emulsion sehr feinkörnig ist, lassen sich die Objekte nach dem Entwickeln stark vergrößern und in Mikroaufnahmen festhalten.

Wir exponierten unsere Schnitte in lichtdichten Kästen bei konstanter Temperatur im Kühlschrank. Als Expositionszeiten wählten wir 14 Tage und drei Wochen.

Für das Zustandekommen kontrastreicher Abbildungen forderte WACHSMANN (197) zwar eine Mindestteilchendichte von 2 mal 10^6 bis 1 mal $10^7/\text{cm}^2$; mit steigender Belichtungs- bzw. Expositionszeit wird aber andererseits das Auflösungsvermögen verschlechtert. Reduzierende Stoffe können in die Emulsionsschicht hineingelangen und nach dem Entwickeln als störende Schwärzung sichtbar werden.

Auch bei protrahierter Entwicklung kann etwas Bromsilber, das nicht von der Strahlung beeinflusst wurde, reduziert werden.

Die Entwicklungszeit betrug 5 bis maximal 8 Minuten. Als Entwickler benutzten wir den von Kodak als D 19 b angegebenen:

2,2 g Methol

72,0 g Natriumsulfit (wasserfrei)

8,8 g Hydrochinon

48,0 g Soda (wasserfrei)

4,0 g Kaliumbromid

ad 1000 ml aqua dest., anschließend Filtration.

Nach einer Zwischenwässerung von 2 bis 3 Min. wurden die Objektträger in ein Fixierbad, eine wässrige Lösung von Natriumthiosulfat, gebracht. Die unbelichteten Silbergranula wurden in lösliche Komplexverbindungen überführt und herausgespült.

Unter fließendem Leitungswasser wurden die Filme anschließend 2 bis 5 Min. gewässert.

Die modifizierte H.E.-Färbung der Gewebsschnitte mit den anhaftenden Filmen schloß sich sofort an:

45 Min. Hämalan nach NAGER

30 Min. "Bläuen" unter fließendem Leitungswasser

10 Min. Eosin (0,2 %)

8 Min. 70 %-iger Alkohol

5 Min. 80 %-iger Alkohol

5 Min. 96 %-iger Alkohol

8 Min. Äylol.

Nach Lufttrocknung entfernten wir die Filme mit Hilfe einer Rasierklinge bis auf eine kleine Umrandung des jeweiligen Gewebsschnittes.

Das Einbetten erfolgte mit Eukitt.

I) Auswertung der Autoradiographien

Von jedem Organ wurden im Durchschnitt acht histologische Präparate hergestellt.

Um bei der Auswertung der Autoradiographien Artefaktbildungen ausschliessen zu können, fertigten wir unter gleichen Bedingungen auch von Kontrolltieren Gefrierschnitte an.

Alle Kontrollpräparate waren frei von Schwärzungen.

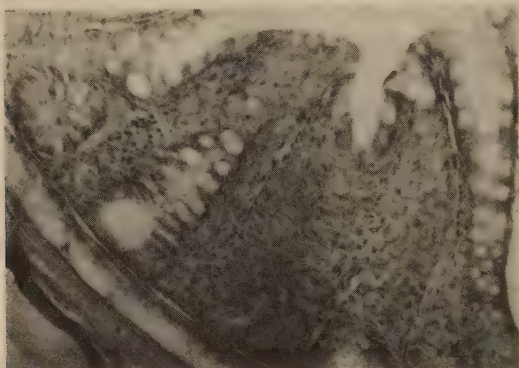


Abb. 1

Dünndarm- Kontrollpräparat, 3 Wochen exponiert.

Die Betrachtung der Organschnitte von geimpften Tieren zeigte besonders mit Oelimmersion Hormonanreicherungen, die vorwiegend an den Zellrändern, im interstitiellen Gewebe und über den Gefässen lokalisiert waren.

Bis zu 12 Stunden p.i. waren in jedem Gewebe deutliche Schwärzungen nachweisbar; in allen Organschnitten konnte bei späteren Zeitwerten ein Intensitätsabfall registriert werden.

Obwohl keine selektive Speicherung in bestimmten Organen, z.B. in den Geschlechtsorganen beobachtet wurde, fielen doch beim Vergleich der Präparate Aktivitätsunterschiede auf.

In der HYPOPHYSE war selbst nach Kurzzeitwerten nur eine geringe autoradiographische Schwärzung erkennbar.

Auch die HERZMUSKEL-Präparate (Abb. 2) zeigten nur geringe Autoradiographie im Gebiet der Blutgefäße und über den Gewebsspalten.

Die Zellkerne und alle Kontrollpräparate waren frei von Schwärzungen.

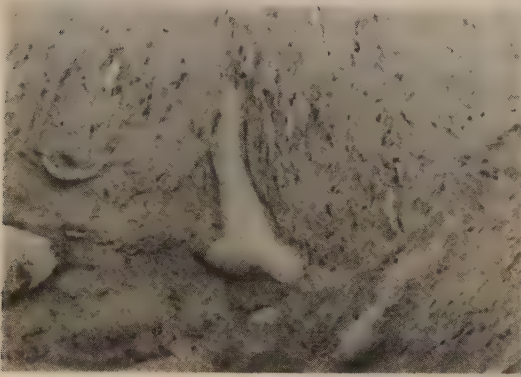


Abb. 2

Herzmuskel, 2 Wochen exponiert.

Relativ geringe Autoradiographien zeigten auch die MILZ-Präparate (Abb. 3). 10 Min. p.i. waren Schwärzungen über den Gefäßen, besonders über den Zentralvenen, in den Zellspalten und an den Zellrändern nachweisbar.

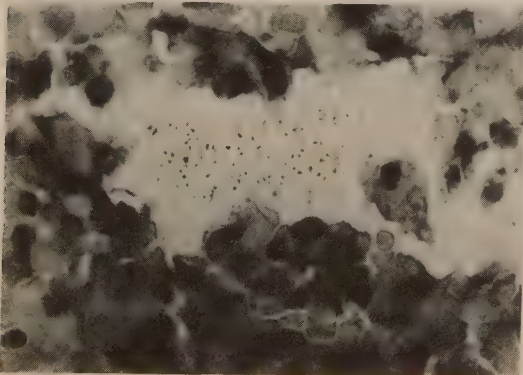


Abb. 3

Milz. 3 Wochen exponiert.

Neben diesen typischen zellrandständigen Lokalisationen traten Autoradiographien auch über den Zellkernen der Gefäßendothelien auf.

Nach einer Stunde waren nur noch schwache Intensitäten in den Blutgefäßen zu erkennen.

Die Langzeitpräparate und alle Präparate von nichtbehandelten Tieren waren frei von Schwärzungen.

In der LUNGE waren bereits 2 Min. p.i. autoradiographische Schwärzungen in den Bronchien, Bronchiolen und besonders über den Alveolenlumen nachweisbar. Die Lokalisation war sowohl in den Blutgefäßen, Bronchien und Alveolen, als auch in den Zellen typisch wandständig (Abb. 4).

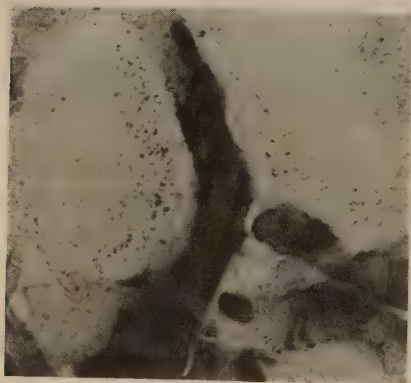


Abb. 4

Lunge, 2 Wochen exponiert.

24 Stunden p. i. waren noch deutliche Intensitäten vorhanden (Abb. 5).

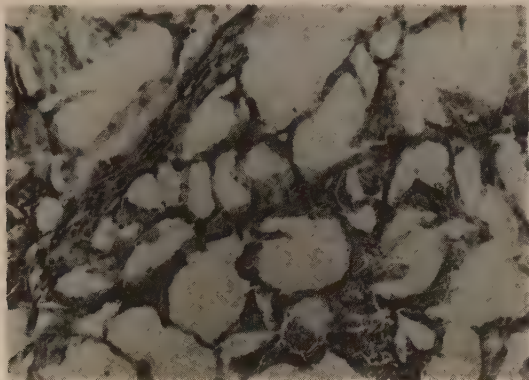


Abb. 5

Lunge, 2 Wochen exponiert.

Zellkerne und alle Kontrollpräparate zeigten keine Autoradiographie.

Die DÜNNEDARM- Präparate zeigten intensive Autoradiographie über den Lumen der Darmzotten und der Drüsen-schläuche (Abb. 6).

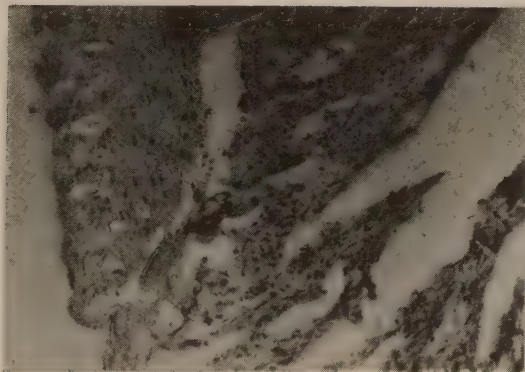


Abb. 6

Dünndarm, 3 Wochen exponiert.

Selbst 48 Stunden p.i. waren noch deutliche Schwärzungen nachweisbar (Abb. 7).

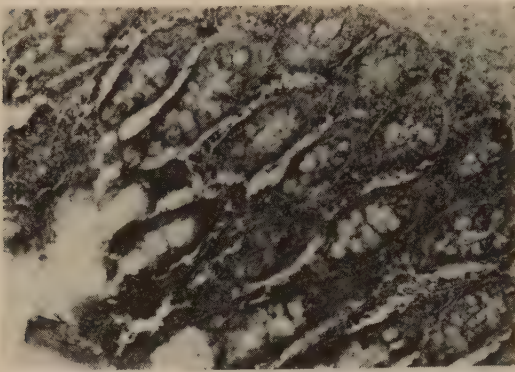


Abb. 7

Dünndarm, 3 Wochen exponiert.

Die Kontrollpräparate waren frei von Radioaktivität.
(vgl. Abb. 1).

Ausgeprägte strukturgebundene Autoradiographien waren auch über den Lumen der Dickdarmzotten und im interstiellen Gewebe zu finden (Abb. 8, 9).

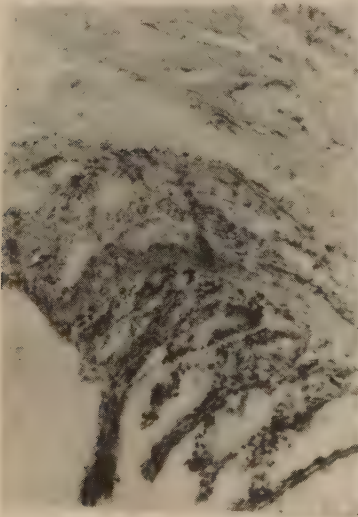


Abb. 8

Dickdarm, 3 Wochen exponiert

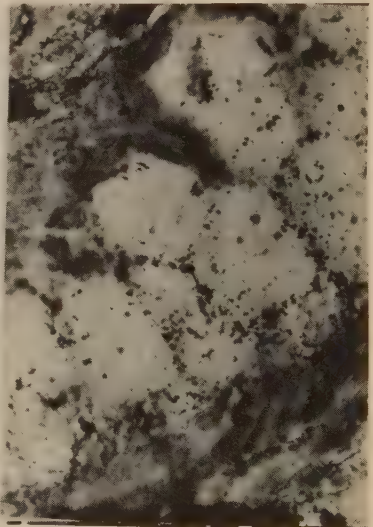


Abb. 9

Dickdarm, 3 Wochen exponiert.
niert.

12 Stunden p.i. erschienen die Darmkrypten und Darmzotten noch wie von der Schwärzung nachkonturiert (Abb. 10).

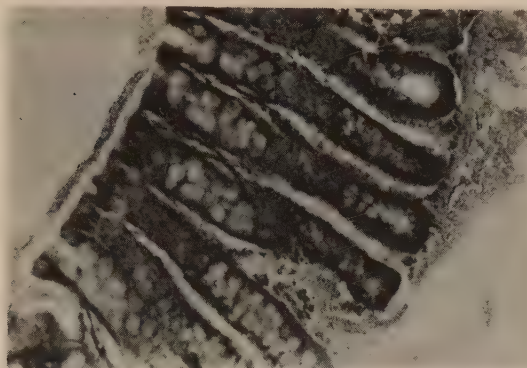


Abb. 10

Dickdarm, 3 Wochen exponiert.

Auch die Dickdarm-Kontrollpräparate zeigten keine Autoradiographie.

20 Min. p.i. wies die UTERUS-Schleimhaut im Übersichtsbild nur geringgradige Autoradiographie auf (Abb. 11).

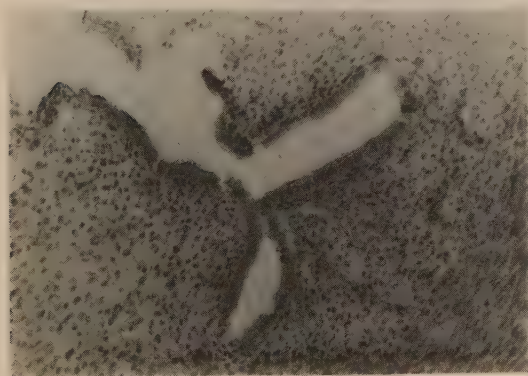


Abb. 11

Uterus, 2 Wochen exponiert.

Die Schwärzungen waren 6 Stunden p.i. diffus über alle Schichten der Uteruswand und über dem Uteruslumen verteilt. Auffällig waren auch hier die typisch randständigen Lokalisationen. Zellkerne und Kontrollpräparate waren frei von Autoradiographie (Abb. 12, 13).

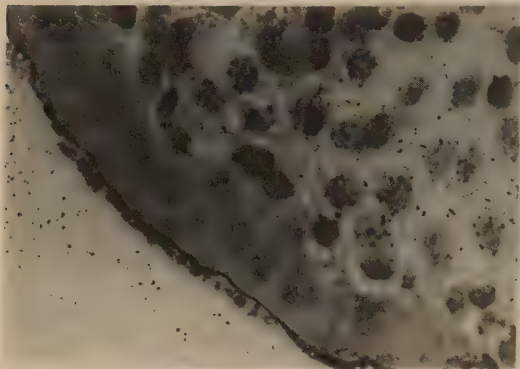


Abb. 12

Uterus, 3 Wochen exponiert.

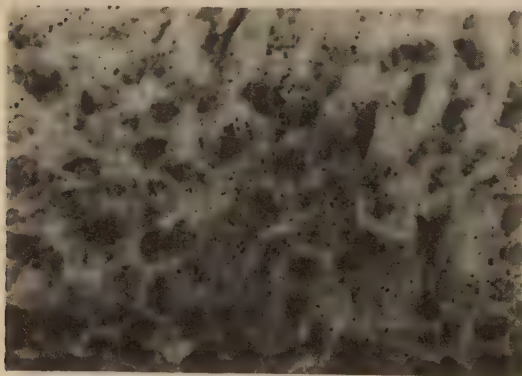


Abb. 13

Uterus, 3 Wochen exponiert.

Schwärzungszentren fanden sich 12 Stunden nach der Injektion über dem Uteruslumen, über den Endothelzellen der Schleimhaut und den Glandulae uterinae bis zur Muscularis (Abb. 14).

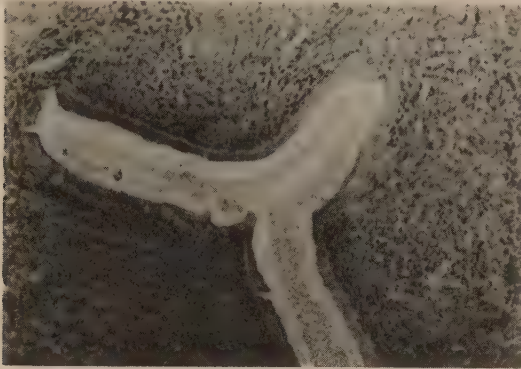


Abb. 14

Uterus, 3 Wochen exponiert.

6 Stunden p.i. waren auf der VAGINA-Übersichtsaufnahme keine deutlichen Schwärzungen erkennbar (Abb. 15).

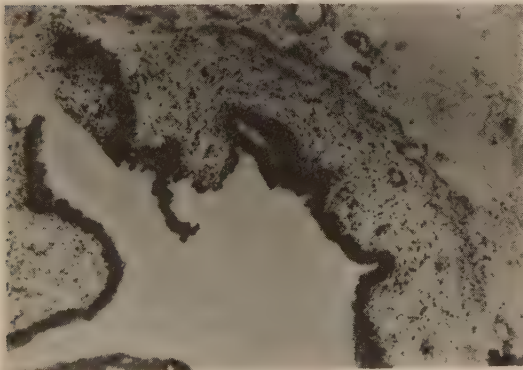


Abb. 15

Vagina, 2 Wochen exponiert.

Bei stärkerer Vergrößerung sah man diffuse Autoradiographien über der vaginalen Schleimhaut und über dem Bindegewebe (Abb. 16).

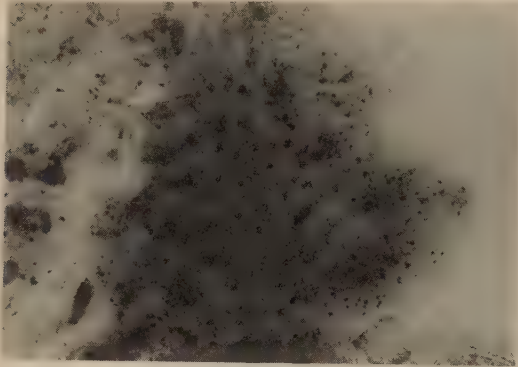


Abb. 16

Vagina, 2 Wochen exponiert.

12 Stunden p.i. waren auch über dem Vaginallumen, über den Pflasterzellen und zwischen den Gewebsspalten Schwärzungen nachweisbar (Abb. 17).

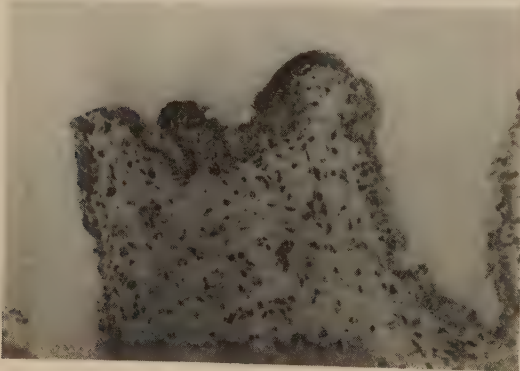


Abb. 17

Vagina, 2 Wochen exponiert.

Auch nach 24 Stunden konnte bei stärkerer Vergrößerung noch mäßige Autoradiographie besonders im Interstitium und über den Blutgefäßen registriert werden (Abb. 18).

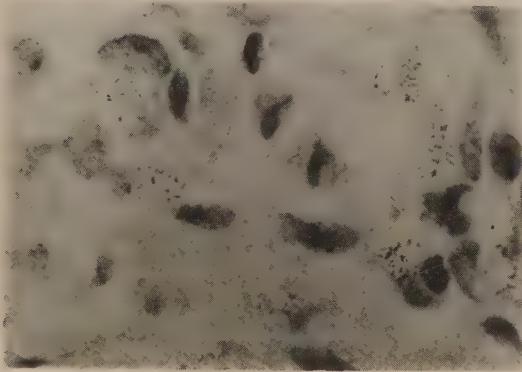


Abb. 18

Vagina, 3 Wochen exponiert.

Bereits 10 Min. p.i. waren schon bei Lupenbetrachtung auf dem NIEREN-Übersichtsbild geringe Autoradiographien zu erkennen (Abb. (19),

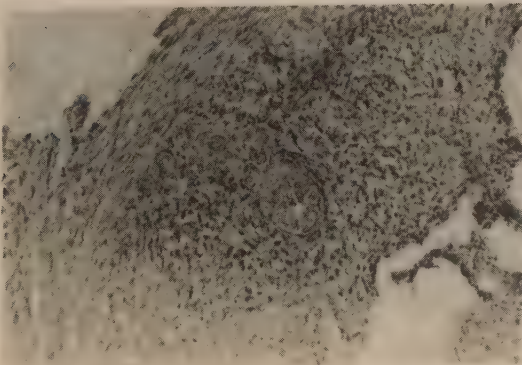


Abb. 19

Niere, 2 Wochen exponiert.

die bei stärkerer Vergrößerung deutlicher wurden
(Abb. 20).

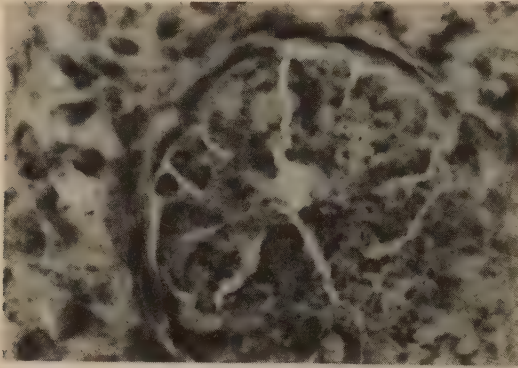


Abb. 20

Niere, 2 Wochen exponiert.

Starke Schwärzungen über den Bowmanschen Kapseln mit
ihren Glomeruli, über den Tubuli und über den Lumen der
Harnkanälchen wurden 1 Stunde p.i. registriert (Abb. 21,22)

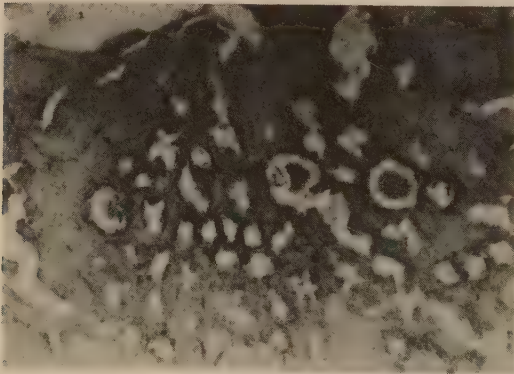


Abb. 21

Niere, 3 Wochen exponiert.

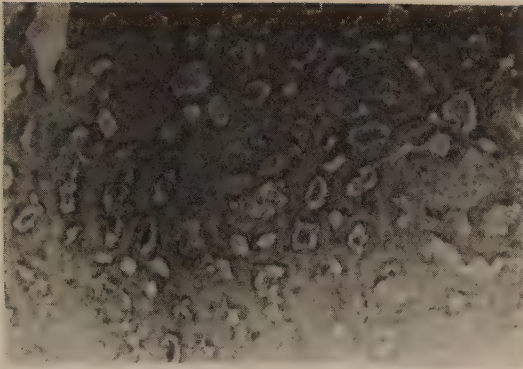


Abb. 22

Niere, 3 Wochen exponiert.

Nach 6 Stunden waren in den Tubuli noch charakteristische Schwärzungen nachweisbar (Abb. 23).

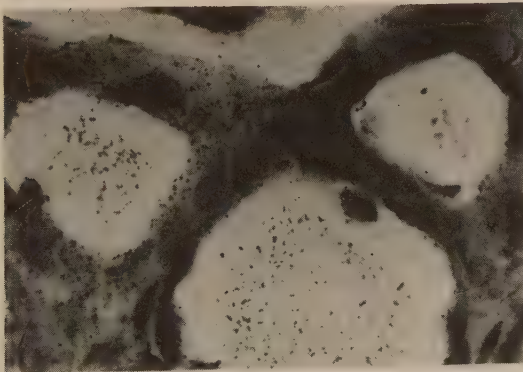


Abb. 23

Niere, 3 Wochen exponiert.

Bei stärkster Vergrößerung sahen wir selbst 24 Stunden p.i. über den Lumen der Tubuli und auch über den Zellen Autoradiographie, die in typischer Weise wieder wandständig angeordnet war (Abb. 24). Zellkerne und Kontrollen blieben frei.

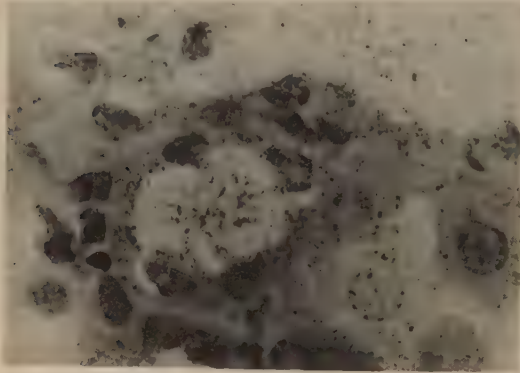


Abb. 24

Niere, 2 Wochen exponiert.

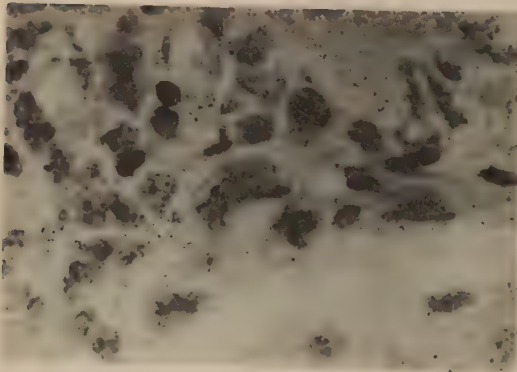


Abb. 25

Leber, 2 Wochen exponiert.

Bei Betrachtung der LEBER-Schnitte fiel vor allem nach 10 und 20 Min. hohe Autoradiographie auf, die sich über den Lumen der Blutgefäße und deren Endothelzellen lokalisierte.

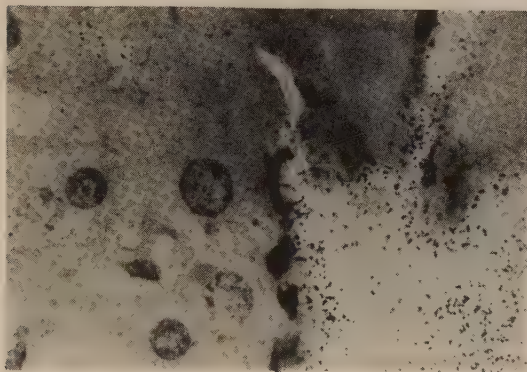


Abb. 26

Leber, 3 Wochen exponiert.

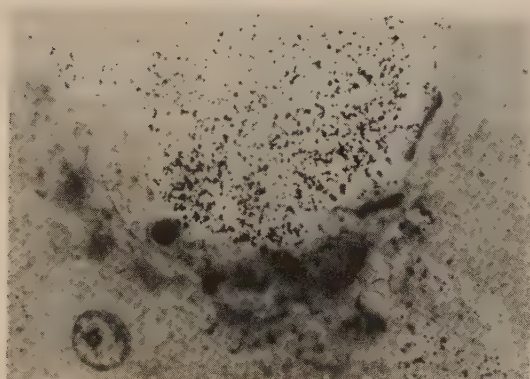


Abb. 27

Leber, 3 Wochen exponiert.

1 Stunde p.i. sahen wir Schwärzungen in dem lockeren Bindegewebe der periportalten Felder mit ihren Venen, Arterien und Gallengängen (Abb. 28).

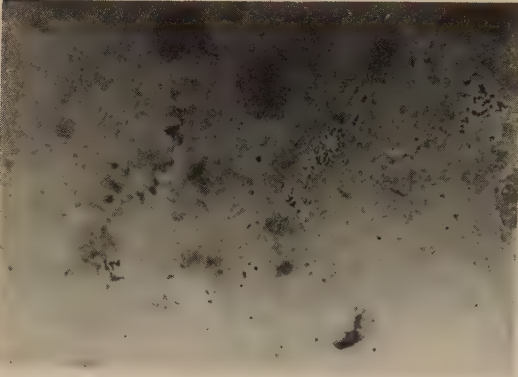


Abb. 28

Leber, 3 Wochen exponiert.

Geringere diffuse Autoradiographie befand sich zu gleicher Zeit auch über den Leberzellen mit Hauptlokalisation an den Zellbalken und an den Zellmembranen (Abb. 29).

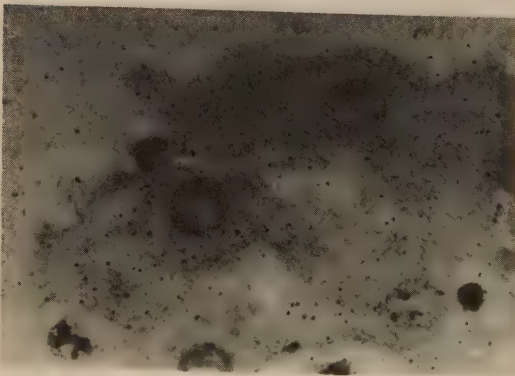


Abb. 29

Leber, 2 Wochen exponiert.

Die Zellkerne waren frei von Autoradiographie.

4.) D i s k u s s i o n

Die Verwendung künstlich radioaktiver Isotope war für die Erforschung des intermediären Hormonstoffwechsels von großer Bedeutung. Durch die ausgesandte Strahlung konnte das Schicksal komplizierter Verbindungen selbst dann noch verfolgt werden, als die Möglichkeiten der chemischen und physikalischen Nachweisverfahren längst erschöpft waren.

Voraussetzung für eine sinnvolle Anwendung der Tracer-Methode war die Etikettierung in einem für die Hormonwirkung entscheidenden Anteil des Moleküls, der keinem Teilabbau unterlegen war.

Das injizierte 17β -Oestradiol, in dem H-Atome an Kohlenstoffatomen von Tritium ersetzt worden waren, konnte nach JANCÍK (198) mit unveränderten Eigenschaften aus Urin und Serum zurückgewonnen werden. Der Reinheitsgrad des Hormons wurde papierchromatographisch geprüft und bestätigt. Durch die Markierungsprozedur waren die biologischen und chemischen Eigenschaften des Oestradiols nicht beeinträchtigt worden.

Die einmalige Hormondosis von 100μ mit einer spezifischen Aktivität von $0,117\text{ mC/mg}$ war groß genug, um mit den zur Verfügung stehenden Meßmethoden im Blut und Gewebe nachgewiesen zu werden. Sie lag andererseits noch unter dem Niveau, das physiologische Störungen hervorrufen würde.

Nach den Arbeiten von HARDY, WARD, TURNER und SAMPSON (199) erfolgt der Transport der Oestrogene vom Ort der Entstehung zu den Organen metabolischen Abbaus vorwiegend auf dem Blutwege.

Die Hormone werden nach Angaben RAKOFFs (200) in zunächst freier Form abgegeben, um als konjugierte Metaboliten ca. 15 - 30 Min. nach der Injektion ihren Höchstwert im Plasma (201) zu erreichen.

Unsere Messungen an insgesamt 32 kastrierten Tieren ergaben bereits 2 Min. p.i. ein Oestrogenmaximum im Serum.

Zu beinahe gleichen Ergebnissen kam JANCİK (202), die bei nicht oophorektomierten Ratten in den ersten 3 Min. die höchsten Aktivitäten im Blut registrierte.

Während aber JANCİK dann einen Abfall der Konzentration um $\frac{3}{4}$ der Ausgangsimpulse mit relativ konstant bleibenden Werten in den nächsten 66 Minuten angab, registrierten wir 10 Min. p.i. einen deutlichen Hormonabfall während der nächsten 10 Min. auf etwa 50 % des 2 Min. Wertes.

Wir beobachteten bis zu 6 Std. nach der Injektion ein kontinuierliches Konzentrationsgefälle. Die Serumwerte blieben nach unseren Messungen bis ca. 48 Std. p.i. hoch und etwa konstant im Gegensatz zu den Ergebnissen RAKOFFs (203), der nach drei Tagen nur noch leicht erhöhte Oestrogenwerte beschrieb.

Die Ansichten über die Oestrogenbindungen an Proteine sind heute noch sehr unterschiedlich. Während BRUNELLI (204) eine Affinität der oestrogenen Aktivität an die Globulinfraction des Plasma feststellte, schrieben ANTONIADES, Mc ARTHUR, PENNELL u.a. (205) den Albuminen und den β -Globulinen Trägerfunktionen zu.

Bei unseren Experimenten konnten in allen Eiweißfraktionen - besonders in der Albumin- und Globulinfraction α 2-Aktivitäten gemessen werden. Es müssen also sowohl die Albumin-, als auch die Globulinfractionen "Trägerfunktionen" für das 17 β -Oestradiol haben.

ROBERTS und SZEGO (206) isolierten bei menschlichen Blutuntersuchungen Oestrogene aus den β -Lipoiden und schrieben vor allem der Fraktion III₁₀ nach COHN Oestrogenwirkung zu.

BISCHOFF et al (207) konnten dagegen in der Cohn'schen Proteinfraktion keine Oestroproteine nachweisen. Sie

beobachteten, wie auch aus unseren Versuchen hervorging, besondere Affinitäten des Oestradiols zu Albuminen und Globulinen.

Über die Art der Oestrogen-Protein-Bildungen bestehen noch keine einheitlichen Vorstellungen.

Bekannt ist aber, daß besonders die Rattenleber eine entscheidende Rolle in der Bildung der "Oestroproteine" spielt, die möglicherweise andere als die Proteinbindungen im Blut sind. Die Eiweißverbindungen mit freien Oestrogenen mögen auch andere sein als die mit konjugierten Formen.

Es ist anzunehmen, daß die Proteinbindung als Hormonreservoir kaum von Bedeutung ist, zumal wir mit JANCIK (202), BISCHOFF u.a. (201) in den Untersuchungen einen sehr raschen Konzentrationsabfall registrierten.

Bereits 2 Min. p.i. konnten wir 66,6 % von der Aktivität der applizierten Hormondosis im Serum nicht mehr nachweisen. HEUSGHEM (208) fand 1 Min. nach i.v.-Injektion von radioaktiven (^{14}C -16)-Oestron weniger als 1 % der applizierten Dosis im Rattenserum wieder.

Nach SANDBERG und SLAUNWHITE (209) sollen zunächst die Erythrozyten Träger der Oestrogene sein. MIGEON et al (210) gewannen 14 - 32 % der gesamten Radioaktivität aus den Erythrozyten.

Es wäre demnach durchaus denkbar, daß wenige Minuten nach der Injektion die Hauptmenge des Hormons noch an die körperlichen Bestandteile gebunden wäre und sich noch nicht im Serum erfassen ließe. Andererseits konnten wir in der Lunge bereits 2 Min. p.i. autoradiographische Schwärzungen in den Bronchien, Bronchiolen und über den Alveolenlumen nachweisen.

Auch HEUSGHEM (208) isolierte bereits 1 und 2 Min. p.i. Aktivitäten in den Geweben von Ratten und Kaninchen, während JANCIK (211) erst 15 Min. p.i. erhebliche autoradiographische Schwärzungen im Rattenlungengewebe beschrieb.

Bei der Betrachtung der Leberschnitte fielen vor allem 10 und 20 Min. p.i. hohe Autoradiographien über den Lumen der Blutgefäße und den Endothelzellen auf.

JANCIK (212) fand 30 Min. p.i. interstitielle Schwärzungszentren im Bereich der Zentralvene und im Gebiet des periportalen Feldes. 10 Min. p.i. zeigte auch ein Nierenübersichtsbild unserer Präparate geringe Hormonanreicherungen.

Wie HEUSGHEM, so konnten auch wir die applizierten Oestrogene bereits nach Kurzzeitwerten in den Geweben wiederfinden.

JANCIK beschrieb u.a. intensive Schwärzungszentren im Lebergewebe, in der Lunge und in der Milz wenige Minuten nach der Hormonapplikation.

In unseren Präparaten waren bis etwa 12 Stunden nach der Injektion in beinahe allen Geweben deutliche Autoradiographien nachweisbar. LEHNIGER und SCOTT (213) fanden Oestrogenkonzentrationen in ebenfalls allen Geweben, deren Verteilung nach DICZFALUSY (214) dort den Durchblutungs- und Permeabilitätsbedingungen folgt.

Eine Anreicherung in den Erfolgsorganen sowie eine Speicherung in den sekundären Geschlechtsorganen konnten wir nicht beobachten. Diese Ergebnisse fanden in den Experimenten von DICZFALUSY (214) und JANCIK (215) ihre Bestätigung.

NOALL (216) konnte mit ^{14}C -markiertem 17 β -Oestradiol durch Inkubation nachweisen, daß eine Einwirkung des Oestradiols auf die Eiweißsynthese des Uterus nur in vivo möglich ist.

JENSEN u. JACOBSON (217) fanden bei Versuchen mit injizierten ^3H -markiertem Oestradiol das unveränderte Oestradiol im Uterus und Vagina wieder im Gegensatz zu anderen Organen, in denen ein Umbau zu Oestron erfolgt.

Die sich aus den Autoradiographien ergebende Verteilung des Hormons wies auch in dieser Arbeit auf die Bedeutung

der dem Umbau bzw. Abbau und der Ausscheidung dienenden Organe hin.

So fanden wir die höchsten Oestrogenkonzentrationen in der Leber, in der Niere, im Darm und in der Lunge. Zu gleichen Ergebnissen kamen auch HEUSGHEM (208) und JANCİK. ALBERT et al (218) registrierten in ihren autoradiographischen Studien mit ¹³¹J-17- β -Oestradiol an Rattenorganen neben Ansammlungen im Bindegewebe und in der Haut die größten Konzentrationen im Leber- und Nierengewebe.

Alle Autoren beschrieben Oestrogenanreicherungen in der Leber. Vermutlich werden die Hormone mit dem Blut und über den enterohepatischen Kreislauf der Leber ständig zugeführt, von ihr konjugiert und abgebaut.

Auch in den Dünn- und Dickdarmpräparaten fanden wir deutliche Autoradiographien. Nach HEUSGHEM (208) spielt die Ausscheidung über den Darm bei den Nagern eine entscheidende Rolle als beim Menschen, obwohl DICZFALUSY (214) auch in der menschlichen Darmschleimhaut eine hohe Oestrogenkonjugierung nachwies.

BEER und GALLACHER (219) isolierten große Oestrogenmen- gen aus dem Harn, die nach der Passage durch die Leber, an Glukuronsäuren konjugiert, über die Nieren ausgeschieden wurden.

In unseren Präparaten waren hohe Autoradiographien sowohl über den Glomeruli, als auch über den Tubuli nachzuweisen im Gegensatz zu der Auffassung BOETTIGERS (220), der vor allem die Tubuli für die Oestrogenausscheidung verantwortlich machte.

DICZFALUSY (221) beschrieb auch im Lungengewebe menschlicher Feten große Hormonanreicherungen. Wir konnten mit JANCİK (222) über den Lumen der Bronchien, Bronchiolen und Alveolen Autoradiographien nachweisen, so daß eine Ausscheidung über die Atemwege durchaus anzunehmen ist. In allen Geweben gelingt nach wenigen Tagen ein autoradiographischer Oestrogennachweis kaum noch. DICZFALUSY (223) vermutet, daß "die Oestrogene in einer

bestimmten Dosishöhe mit einer Art Initialinduktion eine enzymatische Kettenreaktion des Stoffwechsels katalytisch einleiten."

Die biochemischen Hormonanalysen und die Untersuchungen mit etikettierten Steroiden ergaben z.T. sehr divergierende Resultate, so daß eine Fortsetzung dieser Arbeiten mit verbesserter Methodik und erweiterten Untersuchungsreihen erforderlich wäre.

So müssen unsere Ergebnisse bezüglich der Serumbindungsaffinität bzw. des Bindungsvermögens der Serumfraktionen zu Oestrogenen mit einiger Skepsis betrachtet werden. Da die Befunde auf reiner Aktivitätsbestimmung beruhen, fehlt der radiochromatographische Nachweis, daß die gemessene Aktivität mit den Oestrogenen identisch ist und nicht bereits eine Umbildung durch Stoffwechselprozesse zu unspezifischen Abbauprodukten bzw. sogar zu Tritiumwasser erfolgt ist.

Solche Untersuchungen ließen sich aufgrund der geringen spezifischen Aktivität nicht durchführen.

Außerdem ist es fraglich, ob bei der angewendeten Aktivitätsbestimmung in den Elektrophoresestreifen gleiche Anteile an Oestrogenen aus den verschiedenen Eiweißfraktionen herausgelöst wurden, da aufgrund der niedrigen β -Energie des Tritiums praktisch nur diese Aktivität gemessen wird.

Verglichen mit den Arbeiten anderer Autoren, die mit gleichen oder ähnlichen Methoden arbeiteten, sind unsere Ergebnisse unter den angegebenen Einschränkungen aber durchaus aussagefähig.

Erst mit besseren Nachweismethoden ist es möglich, noch tiefer in die Materie einzudringen, deren Auswertung auch für die Klinik von Bedeutung sein wird.

5.) Z u s a m m e n f a s s u n g

Zusammenfassend berichtet die Arbeit über die Verteilung des 17 β -Oestradiols im Serum und im Gewebe weiblicher kastrierter Ratten nach verschiedenen Applikationszeiten.

Für die Experimente wurden insgesamt 32 reinerbige weibliche Albinoratten verwendet, die bei einem durchschnittlichen Alter von 100 Tagen und einem mittleren Gewicht von 180 - 200 g von dorsal beidseits oophorektomiert worden waren. 8 - 10 Tage nach dem operativen Eingriff wurde jedem Tier eine einmalige Dosis von 100 μ g 17 β -Oestradiol in die dorsale Schwanzvene injiziert.

Das Hormon war mit Tritium nach dem WILZBACH-Verfahren markiert worden.

Der Reinheitsgrad des etikettierten Hormons wurde papierchromatographisch geprüft; die biologischen und chemischen Eigenschaften hatten sich durch die Markierungsprozedur nicht verändert.

Im experimentellen Teil der Arbeit wurde zunächst die quantitative Verteilung von Radioaktivität in den einzelnen Eiweißfraktionen gemessen. Die jedem Tier applizierte tritiummarkierte 17 β -Oestradiolmenge von 100 μ g entsprach bei einer spezifischen Aktivität von 0,117 mC/mg einer Gesamtaktivität von 11,7 μ C.

Nach verschiedenen Zeitabständen p.i. wurden alle 32 Ratten durch Decapitieren getötet.

Das Serum jedes einzelnen Tieres wurde für die Elektrophorese verwandt.

Als Pufferlösung diente der sog. MICHAELIS-Puffer mit einem pH von 8,6. Das Elphor-Drucktasten-Speisegerät zeigte bei 100 V Gleichstrom ca. 1,1 - 1,4 mA je Elphorstreifen an.

Die nach den Fraktionen aufgeschnittenen Elektrophoresestreifen wurden in Probefläschchen mit Szintillationsflüssigkeit bedeckt und zur Impulsmessung in den Szintillationszähler gebracht. Die Aktivitäten der einzelnen Fraktionen wurden in Impulsen pro drei Minuten angegeben. Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde der background subtrahiert.

Aus unseren Messungen ergab sich 2 Min. p.i. ein Oestrogenmaximum im Rattenserum.

Es waren zu dieser Zeit noch 33,4 % von der Aktivität der applizierten Hormondosis nachweisbar. Auch 10 Min. p.i. war der Oestrogenanteil noch sehr groß. Es erfolgte nun ein rascher Hormonabfall während der nächsten 10 Min. auf etwa 50 % des 2-Min.-Wertes. Bis zu sechs Stunden p.i. war ein kontinuierlicher Konzentrationsabfall zu beobachten. Die nach 6 Stunden gemessenen Werte veränderten sich nur wenig; die Serumwerte blieben hoch und etwa konstant bis 48 Stunden p.i.. Nach 72 Stunden erfolgte ein Konzentrationsabfall. Es waren aber auch nach dieser Zeit noch 7 % der applizierten Aktivität nachweisbar (= etwa 1/5 des 2-Min.-Wertes).

In allen Eiweißfraktionen wurden Aktivitäten gemessen. Der prozentuale Anteil der Albuminfraktion und der Globulinfraktion α_2 war etwas größer als der Anteil der übrigen Fraktionen, überragte diese aber nur wenig.

Parallel den Serumanalysen wurden alle 32 Albinoratten für die autoradiographischen Studien verwendet. Die Organe der ausgebluteten Tiere wurden zunächst für kurze Zeit fixiert. Von beinahe jedem Organ stellten wir Gefrierschnitte her, die mit Kodak Stripping-Film AR 10 überzogen wurden.

Nach Expositionszeiten von 14 Tagen und drei Wochen wurden die Filme entwickelt, fixiert und schließlich gefärbt.

Um bei der Auswertung der Autoradiographien Artefaktbildungen ausschließen zu können, fertigten wir auch

von Kontrolltieren unter gleichen Bedingungen Gefrierschnitte an.

Alle Kontrollpräparate waren frei von Schwärzungen.

Die Betrachtung der markierten Organschnitte zeigte Hormonanreicherungen besonders an den Zellrändern, im interstitiellen Gewebe und über den Gefäßen.

Bis zu 12 Stunden p.i. waren etwa in allen Geweben deutliche Schwärzungen nachweisbar; in allen Organschnitten konnte bei den späteren Zeitwerten ein Intensitätsabfall registriert werden.

Eine selektive Speicherung in bestimmten Organen, etwa in den sekundären Geschlechtsorganen, wurde nicht beobachtet.

Es fielen aber beim Vergleich der Präparate Aktivitätsunterschiede auf:

Während die Hypophysen-, Herzmuskel- und Milzpräparate selbst nach Kurzzeitwerten nur geringe autoradiographische Schwärzungen zeigten, waren in der Lunge auch 24 Stunden p.i. noch deutliche Intensitäten erkennbar.

Intensive Autoradiographien fanden wir in den Dünn- und Dickdarmschnitten, vor allem bis 12 Stunden p.i.

Nach dieser Zeit imponierten auch Schwärzungszentren über dem Uteruslumen, der Uterusschleimhaut bis zur Muscularis, über dem Lumen, den Pflasterzellen und im interstitiellen Gewebe der Vagina.

Die Hauptlokalisationen des markierten Hormons befanden sich in den Nieren- und Lebergeweben, in denen schon nach Minutenwerten, aber auch nach 24 Stunden p.i. stärkste Schwärzungen registriert wurden. Im Gegensatz zu den sonst typischen zellrandständigen Anordnungen traten in den Milzpräparaten über den Zellkernen der Gefäßendothelien und über dem Kern eines Leukozyten in einem Leberschnitt Autoradiographien auf.

6.) L i t e r a t u r n a c h w e i s

1. SEITZ-AMREICH: Biologie und Pathologie d.Weibes, S. 1 (1953).
2. SEITZ, L.: Zentralbl.f.Gynäkologie (1911)
3. DOHRN, M.: Klin.Wochenschrift, 6, 359 (1927)
4. GLASS, S.J., DEUEL, J.J., WRIGHT, C.A., C.A. Endocrinology 26, 590 (1940).
5. STEINACH, E.: Lancet 233, 845 (1937)
6. KENYON, A.T., GALLACHER, T.F., PETERSON, D.H., DORFMAN, R.J. and KOCH, F.C.: J.clin.Invest. 16, 705 (1937)
7. HÄUSSLER, E.P., Helv. chim.Acta, 17, 531 (1934)
8. LEVIN, L.: Fed.Proc. 4, 97 (1945)
9. SEITZ-AMREICH: Biologie u. Path.d.Weibes, 5, 995 (1953)
10. BERSIN, T.: Biochemie d. Hormone, Leipziger Akademische Verlagsanstalt (1959)
11. HOHLWEG, W.: Die Hormone der Keimdrüsen. In Biologie und Pathologie des Weibes. Hrsg. v. SEITZ, L. und AMREICH, A.I., Verlag Urban u. Schwarzenberg, Berlin-Innsbruck-München-Wien, 1953, S. 527.
12. KOCH, W. u. HEIM, K.: Münch.med.Wschr.95, 845 (1953)
13. HOHLWEG, W.:
14. LEVY, L.K.: Arch. Biochem. 50, 206 (1954)
15. DICZFALUSY, E. - LAURITZEN, C.: Oestrogene b.Menschen, 58, 634 (1961)
16. SAND, K.: Experimentelle studier över Könekarakteren hos Fattedyr, Kobenhavn Thesis 1918
17. LIMON, A.: Zit.n.A. WESTMAN aus WESTMAN, A.: Arch. Gynäk. 158, 476 (1934)
18. ALLEN, E., PRATT, J.P. u. DOISY, E.A.: J.Amer.med. Ass. 85, 399 (1925)
19. ZONDEK, B. u. ASCHHEIM, S.: Arch.Gynäk. 130, 1 (1927)
20. FEVOLD, H.L., HISAW, F.L. u. GREEP, R.O., Amer.J. Physiol. 114, 508 (1936)

21. SELYE, H., COLLIP, J.B. u. THOMSON, H.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 30, 780 (1933)
22. HOHLWEG, W.: Die Hormone der Keimdrüsen. In Biologie und Pathologie des Weibes. Hrsg. v. SEITZ, L. und AMREICH, A.I., Verlag Urban & Schwarzenberg, Berlin-Innsbruck-München-Wien, 1953, S. 526.
23. WATZKA, M.: Das Ovarium. In Handb.d.Mikrosk.Anatomie d.Menschen. Kaufmann, E. und M. Staemmler (Edit), Bd. VII/3, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957
24. WESTMAN, A.: Arch.Gynäk. 158, 476 (1934)
25. DICZFALUSY, E. u. LAURITZEN, C.: Oestrogene beim Menschen, S. 60, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1961.
26. PARKES, A.S.: Prov. roy. Soc. B. 100, 172 (1926)
27. GELLER, F.C.: Arch. Gynäk. 139, 530 (1930)
28. HUMPHREYS, E.M. und S. ZUCKERMAN, J. Endocr. 10, 155 (1954)
29. STEINACH, E. u. G. HOLZKNECHT: Arch. Entwickl. Mech. Org. 42, 490 (1916)
30. STIEVE, H.: Med.Klin. 28, I, 849 (1932)
31. SELYE, H.: Textbook of Endocrinology, Kanada (1947)
32. GIESSEN, W.: Geburtsh. u. Frauenheilk. 5 (1943), 219
33. HOHLWEG, W.: Die Hormone der Keimdrüsen. In Biologie u. 34. und Pathologie des Weibes, Hrsg. v. SEITZ, L. und AMREICH, A.I., Verlag Urban & Schwarzenberg, Berlin-Innsbruck-München-Wien, 1953, S. 526/527.
35. HALBAN, J.: Arch.Gynäk. 75, 353 (1905)
36. ASCHNER, B. u. C. GRIGORIU: Arch.Gynäk.94, 766 (1911)
37. HIROSE, T.: Mitt.med.Fak.Tokyo 23, 63 (1919)
38. HARTMANN, H.: Münch.med.Wschr. 79, 895 (1932)
39. SZARKA, S.: Zbl.Gynäk. 54, 2211 (1930)
40. BROWN, J.B.: J.Endocr. 16, 202 (1957)
41. CASSMER, O.: Acta endocr. (Kbh) 1959 Suppl. 45
42. PHILIPP, E.: Zbl.Gynäk. 53, 2386 (1929)

43. WISLOCKI, G.B. and H.S. BENNETT: Amer. J.Anat. 73, 335 (1943)
44. STARR, P.: J.Amer.med.Ass. 104, 1988 (1935)
45. BOTELLA-LLUSIA, J.: In: ANTOINE, Klinische Fortschritte Gynäkologie, S. 324. Wien: Urban & Schwarzenberg, 1954.
46. COREY, E.L.: Amer. J.Physiol. 105, 24 (1933): 132, 446 (1941)
47. COREY, E.L.: BRITTON, S.W.: Amer.J.Physiol. 107, 207 (1934)
48. FINKELSTEIN, N., HESTRIN, S. u. KOCH, W.: Prov.Soc. exp. Biol. (N.Y.) 64, 64 (1947)
49. BEALL, D.: Nature (Mond.) 144, 76 (1939)
50. PARKER, F. u. TENNEY, B., Endocrinology 23, 492 (1938)
51. LELONG, M., VANDEL, S., BORNICHE, P. et JAYLE, M.F.: Ann. Endocr. (Paris) 12, 922 (1951)
52. DICZFALUSY, E., NOTTER, G., EDSMYR, F. u. WESTMAN, A.: J.clin.Endocr. 19, 1230 (1959)
53. DICZFALUSY, E., BIRKE, G., FRANKAON, C., HELLSTRÖM, J., HULTBERG, S., PLANTIN, L.-O. u. WESTMAN, A.: In CURRIE A.R., Editor, Endocrine Aspects of Breast Cancer, p. 213, Edinburgh: Livingstone 1958
54. BREUER, H., W. NOCKE and J.M. BAYER: III. acta endocrinol. Congress, Leiden, 1958
55. BROWN, J.B., C.W.A. FALCONER and J.A. STRONG, J. endocrinol. 19, 52, 1959
56. BULBROOK, R.D. u. GREENWOOD, F.C.: J.endocrin. 13, XXXIII (1956)
57. HARDY, J.D., V.B. WARD, M.D. TURNER and L.P. SAMPSON: Surg. Forum 8, 109 (1957)
58. BREUER, H.: Persönliche Mitteilung.
59. SALHANICK, H.A., F.L. HISAW and M.X. ZARROW: J.klin. Endocr. 12, 310 (1952)
60. GIRARD, A. u. SANDULESCO, G.: Helv.chim.Acta 19, 1095 (1936)

61. DOISY, E.A., VELER, C.D. u. THAYER, S.A.: Amer.J. Physiol. 90 (1929), 329
62. DOISY, E.A., VELER, C.D. u. THAYER, S.A.: J.Biol. Chem. (Am.) 86 (1930) : 499
63. DOISY, E.A., VELER, C.D. u. THAYER, S.A.: J.Biol. Chem. (Am) 87 (1930) : 357
64. BUTENANDT, A.: Naturw. 17 (1929) : 879
65. BUTENANDT, A.: Dtsch.med.Wschr. 55 (1929) : 2171
66. BUTENANDT, A.: Hoppe-Seylers Z. 191 (1930) : 127
67. BERNAL, J.D.: Chem.and Ind. 10, 259 (1932)
68. MARRIAN, G.F. u. G.A.D. HASLEWOOD, Chem. and Ind. 10, 272 T (1932)
69. BUTENANDT, A. u. U. WESTPHAL: Hoppe-Seylers Z.physiol. Chem. 223, 147 (1934)
70. BUTENANDT, A., Nature (London) 130, 238 (1932) Angew. Chem. 45, 655 (1932)
71. MARRIAN, G.F.: Biochem. J. 24, 1021 (1930)
72. BUTENANDT, A.: Nature (Lond.) 130, 238 (1932)
73. HOHLWEG, W.: Klin.Wschr. (1935) : 826
74. SCHWENK, E. u. HILDEBRANDT, F.: Naturw. 20 (1932):685
75. SCHWENK, E. u. HILDEBRANDT, F.: Naturw. 21 (1933):177
76. SCHWENK, E. u. HILDEBRANDT, F.: Biochem.Z.259 (1933) : 240
77. Mc CORQUODALE, D.W., THAYER, S.A. u. DOISY, E.A.: Proc.Soc.exper., Biol. s.Med. 32 (1935) : 1182
78. Mc CORQUODALE, D.W., THAYER, S.A. u. DOISY, E.A.: J.biol.Chem. (Am) 115 (1936) : 435
79. ASCHHEIM, S. u. ZONDEK, B.: Klin.Wschr. (1927) : 28
80. ASCHHEIM, S. u. ZONDEK, B.: Klin.Wschr. (1928) : 1
81. BROWNE, J.S.L.: Zit bei COLLIP, J.B.: Calif.Med. 1, 38 (1930)
82. WESTERFELD, W.W., Mc CORQUODALE, D.A.: THAYER, S.A. u. DOISY, E.A.: J.biol.Chem. 126, 195 (1938)

83. HUFFMAN, M.N., THAYER, S.A. u. DOISY, E.A.: J.biol. Chem. 133, 567 (1940)
84. MARRIAN, F.F. u. LOKE, K.H.: Biochem. biophys. Acts, 27, 213 (1958)
85. DICZFALUSY, E.: Acta endocr. (Kbh) 15, 317 (1954)
86. BEALL, D.: Biochem. J. 34, 1293 (1940)
87. GOLDZIEHER, J.W. u. ROBERTS, I.S.: J.clin.Endocr. 11, 764 (1951)
88. Mc CULLAGH, E.P. u. SCHAFFENBURG, C.A.: J.clin.Endocr. 11, 1403 (1951)
89. TÖRNBLOM, N.: Upsala Läk. Fören. Förh. 48, 1 (1942)
90. WITSCHI, E. u. MENGERT, W.F.: J.clin.Endocr. 2, 279 (1942)
91. MADDOCK, W.O., EPSTEIN, M. u. NELSON, W.O.: Ann.N.Y. Acad. Sci. 55, 657 (1952)
92. NATION, E.F., EDMONDSON, H.A. u. HAMMACK, R.W.: Arch.Surg. (Chicago) 48, 415 (1944)
93. RABINOWITZ, J.L.: J.Amer.chem.Soc. 77, 1295 (1955)
94. LEACH, R.B., MADDOCK, W.O., TOKUYAMA, I., PAULSEN, C. A. u. NELSON, W.O.: Recent. Progr.Hormone Res. 12, 377 (1956)
95. WESTERFELD, W.W., THAYER, S.A., Mc CORQUODALE, D.W. u. DOISY, E.A.: J. biol. Chem. 126, 181 (1938)
96. ZONDEK, B. u. ASCHHEIM, S.: Arch.Gynäk. 130, 1 (1927)
97. HEUSGHEM, C.: Contribution à l'étude analytique et biochimique des Oestrogenes naturels. Liège: Thone 1956
98. SMITH, G.V.S. u. SMITH, O.W.: Recent. Progr.Hormone Res. 1, 209 (1932)
99. ZANDER, J., BRENTLE, E., Von MÜNSTERMANN, A.M., DICZFALUSY, E., MARTINSEN, B. u. TILLINGER, K.-G.: Acta obstet. gynec. scand. 38, 724 (1959)
100. ALLEN, E., NEWELL, Q.U. u. BLAND, L.J.: Amer.J. Physiol. 92, 127 (1930)

101. ZANDER, J. BRENTLE, E., von MÜNSTERMANN, A.M.,
DICZFALUSY, E., MARTINSEN, B. u. TILLINGER, K.-G.:
Acta obstet. gynec. scand. 38, 724 (1959)
102. RABINOWITZ, J.L. u. DOWBEN, R.M.: Biochim. biophys.
Acta 16, 96 (1955)
103. LEVITZ, M., G.P. CONDON u. J. DANCIS: Fed. Proc. 14,
245 (1955)
104. HEARD, R.D.H., E.G. BLIGH, M.C. CANN, P.H. JELLINCK,
V.J. O'DONNELL, B.G. RAO u. J.L. WEBB: Recent progr.
Hormone Res. 12, 45 (1956)
105. NATHANSON, I.T. u. L.E. TOWNE: Endocrinology 25,
754 (1939)
106. ENGEL, L.L.: Recent. Progr. Hormone Res. 12, 399
(1956)
107. MEYER, A.S.: Biochim. Biophys. Acta 24, 1435 (1955)
108. WERBIN, H., J. PLOTZ, G.V. LE ROY u. E.M. DAVIS:
J.Amer. chem. Soc. 79, 1012 (1957)
109. CLAESSON, L. u. HÖGBERG, B.: Acta physiol. scand.
29, 329 (1952)
110. CLAESSON, L., DICZFALUSY, E., HILLARP, N.-A. u.
HÖGBERG, B.: Acta physiol. scand. 16, 183 (1949)
111. FURUHJELM, M.: Acta obstat. gynec. scand. 20 (Suppl.
1) 1 1940
112. DICZFALUSY, E., LAURITZEN, C.: Oestrogene beim
Menschen, 86, 634 (1961)
113. TOMKINS, G.M.: Recent Progr. Hormone Res. 12,
125 (1956)
114. RYAN, K.: Endocrinology 52, 287 (1953)
115. HELLER, C.G.: Endocrinology 26, 619 (1940)
116. ENGEL, L.L.: Recent Progr. Hormone Res. 5 335 (1950)
117. TROEN, P.: J.clin. Invest. - Persönliche Mitteilung
118. BREUER, H., NOCKE, L. und KNUPPEN, R.: Z.physiol.
Chem. 311, 275 (1958)

119. LEVITZ, M., CONDON, G.P. and TWOMBLY, G.H.: J.biol. Chem. 222, 981 (1956)
120. GROLLMAN, A., STIMMEL, B., F., HUFFMAN, M., N.: J. biol. Chem. 176, 461 (1948)
121. STIMMEL, B.F.: Prov. Amer. Ass. Cancer Res. 2, 253 (1957)
122. MIGEON, C.J.: J. clin.Endocr. 13, 674 (1953)
123. BEER, C.T., DOBRINER, K., EIDINOFF, M.L. u. GALLACHER, T.F.: Fed.Prov. 12, 176 (1953)
124. ZONDEK, B.: Skand. Arch. Physiol. 70, 133 (1934)
125. BREUER, H.: Persönliche Mitteilung
126. JELLINCK, P.H.: Biochem. J. 71, 665 (1959)
127. LIEBERMANN, S., TAGNON, H.J. und P. SCHULMAN: J. clin. Invest. 31, 341 (1952)
128. LEHTINEN, A.: Acta chem. scand. 12, 1585 (1958)
129. DICZFALUSY, E. u. LAURITZEN, C.: Oestrogene beim Menschen, 107, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961
130. DICZFALUSY, E., B. MARTINSEN u. C. FRANKSSON: Vortrag I. Internat. Congr. Endocrinology, Kopenhagen, 18 - 23. Juli 1960
131. ZONDEK, B.: Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens. Wien: J. Springer 1935
132. ONESON, J.B. and S.L. COHEN: Endocrinology 51, 173 (1952)
133. GRANT, G.A. u. D. BEALL: Recent Progr. Hormone Res. 5, 307 (1950)
134. COHEN, S.L. u. ODELL, A.D./ Biochem. J. 30, 2250 (1936)
135. HEUSGHEM, C.: Nature (Paris) 173, 1043 (1954)
136. OERTEL, G.W. u. EIK-NES, K.B.: Acta endocr. (Kbh) 30, 93 (1959)
137. MENINI, E. u. DICZFALUSY, E.: Endocrinologie 1960
138. SANDBERG, A.A.: J.clin.Invest.36, 1266 (1957)

139. CANTAROW, A.: Prov. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 52, 256 (1943)
140. SANDBERG, A.A. u. W.R. SLAUNWHITE, jr.: J.clin. Endocr. 16, 923 (1956)
141. BOETTIGER, E.G.: J. cell.comp. Physiol. 28, 139 (1946)
142. TALBOT, N.B.: Endocrinology 25, 601 (1939)
143. TWOMBLY, G.H. u. TAYLOR, H.C.: Cancer Res. 2, 811 (1942)
144. SEGALOFF, A.: Endocrinology 38, 212 (1946)
145. SCHILLER, J. u. PINCUS, G.: Endocrinology 34, 203 (1944)
146. BURROWS, H.: Biological Action of Sex Hormones, London: Cambridge University Press 1949
147. TAYLOR, F.W., DITTMER, T.L. u. POTTER, D.O.: Surgery 31, 683 (1952)
148. ALBERS, H.: Geburtsh. u. Frauenheilk. 1, 629 (1939)
149. NOTARIO, A.: Arch. Sci. med. 91, 255 (1951)
150. RAPP, G.W. u. G.C. RICHARDSON: Science 115, 265 (1952)
151. PARADE, G.W.: Med.Klin. 38, 1188 (1942)
152. REYNOLDS, S.H.M.: Amer. J.Physiol. 98, 230 (1931)
153. ALBERT, S., R.D.H. HEARD, C.P. LEBLOND, J. SAFFRAN: J. biol. Chem. 177, 247 (1949)
154. NEUKOMM, S.: Schweiz.med.Wschr. 81, 833 (1951)
155. FELLNER: Klin.Wschr. 34 (1925) : 1651
156. SPAZIANI, E. u. SZEGO, C.M.: Endocrinology 64, 713 (1959)
157. KUN: Endocrinologie 13 (1934) : 311
158. DICZFALUSY, E.: Oestrogene beim Menschen, 142 (1961)
159. INGLE, D.J.: Acta endocrin. (Kbh) 17, 172 (1954)
160. KAISER, R.: Klin.Wschr. 33, 13 (1955)

161. LONG, R.C. u. J.T. BRADBURY; J.clin. Endocr. 11, 134 (1951)
162. MANNHEIMER, E.: In Meigs Sturgis Progress in Gynecology, S. 63, Vol. II, New York: Grune and Stratton 1950
163. BARTELEMEZ, G.W.: Menstruation. In: Glandular Physiology and Therapie. Chicago: Amer. Med.Ass. Edit. (1942)
164. DICZFALUSY, E.: Oestrogene beim Menschen 163 (1961)
165. WERTH, G.: Arzneimittel-Forsch. 5, 409, 735 (1955) : 6, 79 (1956)
166. FAUVET, E.: Arch. Gynäk. 171, 342 (1941)
167. JEFFCOATE, T.N.A. u. HAEGREAVES: Brit. med. J. 664 (1949)
168. MAYOR: Zbl. Gynäk. 2379 (1936)
169. ROSEMAN, R.H., M. FRIEDMAN u. S.P. BYERS: Endocrinology 51, 142 (1952)
170. REISS, M. u. MARX: Endokrinologie 1, 181 (1928)
171. BURROWS, H.: Biological Action of Sex Hormones. London: Cambridge University Press 1949
172. HOFFMANN, F.: Sexualhormontherapie in der Gynäkologie, Leipzig: J.A. Barth 1959
173. Mc CULLAGH, D.R., J.C. BECK u. C.A. SCHAFFENBURG: Cleveland Clin. Quart. 19, 121 (1952)
174. SANDBERG, A.A.: J. clin. Invest. 36, 1266 (1957)
175. MIGEON, C.J., P.E. WALL u. J. BERTRAND: J. clin. Invest. 38, 619 (1959)
176. DICZFALUSY, E.: Oestrogene beim Menschen, S. 123 (1961)
177. GRAUL, E.H. u. HUNDESHAGEN, H.: Methodik u. Verfahrenstechnik der Synthese u. Analyse Tritium-markierter Substanzen. Atompraxis, Sonderdruck aus Heft 4/5 (1959)
178. JONES, W.M.: Phys. Rev. 83, 537 (1951)

179. PIMSON, E.A. u. LANGHAN, W.N.: J. of Appl. Physiology 10, 108 (1957)
180. WILZBACH, K.E.: Tritium-labeling by exposure of organic compounds to tritium gas. J. Amer. chem. Soc. 79, 1013 (1957)
181. GRAUL, E.H.: Arbeitsbericht 1960
182. TOLBERT und LEMMON: Atompraxis S. 158
183. HARDY, J.D., WARD, V.B., TURNER, M.D. u. SAMPSON, L. P.: Surg. Forum, 8, 109 (1957)
184. SANDBERG, A.A. u. SLAUNWHITE, W.R.: J.clin. Invest. 36, 1266 (1957)
185. MIGEON, C.J., WALL, P.E. u. BERTRAND, J.: J.clin. Invest. 38, 619 (1959)
186. BRUNELLI, B.: Arch.int. Pharmacodyn. 49, 262 (1934)
187. ANTONIADES, H.N., Mc ARTHUR, J.W. PENNELL, R.B., INGERSOLL, F.M., ULFELDER, H. u. ONCLEY, J.L.: Amer. J.Physiol. 189, 455 (1957)
188. ROBERTS, S. and C.M. SZEGO: Endocrinology 39, 183 (1946)
189. LIEBERMAN, S., BRAZEAU, P. u. HARITON, L.B.: J.Amer. chem. Soc. 70, 3094 (1938)
190. ROBERTS, S. u. SZEGO, C.M.: Ann.Rev.Biochem. 24, 543 (1955)
191. BISCHOFF, F. u. YEE, Y.S.: Amer. J.Physiol. 164, 774 (1951)
192. RAKOFF, A.E. u. SOSNOWSKI, J.R.: J.clin.Endocrinology 12, 946 (1952)
193. DONIACH, I. u. PELC, S.R.: Autoradiographic technique. Brit. J. 23, 184 - 192 (1950)
194. GRAUL, E.H. u. HUNDESHAGEN, H.: Methodik u.Verfahrenstechnik der Synthese und Analyse Tritium-markierter Substanzen. Atompraxis, Heft 4/5 (1959), 155

195. PELC, S.R.: Nature (London) 160, 749 (1949)
196. GRAUL, E.H. u. HUNDESHAGEN, H.: Ztschr. f. Naturwissenschaften, Bd. XII, S. 1959
197. WACHSMANN, F.: Die Radioaktiven Isotope. Delp-Taschenbücher, Bd. 309, 62 (1957)
198. JANCÍK, C.: (S. 95 Verfahren nach Iltrich)
199. HARDY, J.D., V.B. WARD, M.D. TURNER and L.P. SAMPSON: Surg. Forum 8, 109 (1957)
200. RAKOFF, A.E.: Amer. J. Obstet. Gynec. 46, 856 (1943)
201. BISCHOFF, F. and Y.S. YEE: Amer. J. Physiol. 164, 774 (1951)
202. JANCÍK, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen über Verteilung und Ausscheidung von Tritium-markiertem 17 β -Oestradiol, S. 98 (1962)
203. RAKOFF, A.E. and J.R. SOSNOWSKI: J. clin. Endocr. 12, 946 (1952)
204. BRUNELLI, B.: Arch. int. Pharmacodyn. 49, 262 (1934)
205. ANTONIADES, H.N., Mc ARTHUR, J.W., PENELL, R.B., INGERDOLL, F.M., ULFELDER and ONCLEY, J.L.: Amer. J. Physiol. 189, 455 (1957)
206. ROBERTS, S. and C.M. SZEGO: Endocrinology 39, 183 (1946)
207. BISCHOFF and C.L. GRAY: Amer. J. Physiol. 177, 65 (1954)
208. HEUSGHEM, C.: Contribution à l'Etude analytique et biochimique des Oestrogènes naturels. Liège: Thone 1956
209. SANDBERG, A.A.: J. clin. Invest. 36, 1266 (1957)
210. MIGEON, B.C.J., P.E. WALL and J. BERTRAND: J. clin. Invest. 38, 619 (1950)
211. JANCÍK, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen über Verteilung und Ausscheidung von Tritium-markiertem 17 β -Oestradiol, S. 74
212. JANCÍK, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen über Verteilung und Ausscheidung von Tritium-markiertem 17 β -Oestradiol, S. 77

213. LEHNIGER, A.L. and W.W. SCOTT: Endocrinology 40, 9 (1947)
214. DICZFALUSY, E., LAURITZEN, C.: Oestrogene beim Menschen, S. 131 (1961)
215. JANCIK, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen über Verteilung und Ausscheidung von Tritium-markiertem 17 β -Oestradiol, S. 95 (1962)
216. NOALL, M.W.: Biochim. Biophys. Acta 40, 180 (1960)
217. JENSEN, E.V. u. JACOBSON, H.J.: Rec. Progr. Hormon Res. 18, 387 (1962)
218. ALBERT, S., R.D.H. HEARD, C.P. LEBLOND and J. SAFFRAN: J. biol. Chem. 177, 247 (1949)
219. BERR, C.T. u. GALLACHER, T.F.: J. biol. Chem. 214, 335 (1955)
220. BOETTIGER, E.G. u. BOETTIGER, B.C.: J. cell. comp. Physiol. 27, 65 (1946)
221. DICZFALUSY, E. u. LAURITZEN, C.: Oestrogene beim Menschen, S. 106, Springer-Verlag 1961
222. JANCIK, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen über Verteilung und Ausscheidung von Tritium-markiertem 17 β -Oestradiol, S. 96 (1962)
223. DICZFALUSY, E. u. LAURITZEN, C.: Oestrogene beim Menschen, S. 132, Springer-Verlag 1961.

Herrn Professor Dr. Dr. E.H. Graul möchte ich für die Überlassung des Themas und die wissenschaftliche Beratung meinen Dank aussprechen.

Die Anregung zu dem Thema und die Anleitung zu den experimentellen Arbeiten verdanke ich Herrn Dr. Geipel. Herr Professor Solth beriet mich bei der Auswertung der experimentellen Meßergebnisse.

Für die wissenschaftliche Beratung der Versuchsanordnungen in der Arbeit bin ich Herrn Priv.-Doz. Dr. Schaumlöffel zu Dank verpflichtet.

L e b e n s l a u f

Am 29.3.1938 wurde ich, Helga Brigitte K a r a l l u s geb. Bergner, als einziges Kind des damaligen Bau-
meisters Fritz Bergner und seiner Ehefrau Johanna geb.
Kolbe in Leipzig geboren. Meine Kindheit verlebte ich
in Rochlitz/Sa., wo ich von 1944 bis 1952 die Grund-
schule und ab September 1952 die Friedrich-Engels-Ober-
schule besuchte. Am 29.5.1957 legte ich an der Ge-
schwister-Scholl-Oberschule in Auerbach/Vogtl. das
Abitur ab. Da mir die Zulassung zum Studium in meiner
Heimat verwehrt wurde, begann ich nach Bestehen einer
Sonderprüfung am Staatl. Aufbaugymnasium in Laasphe/
Westf. im Sommersemester 1958 mit dem Medizinstudium
an der Philipps-Universität in Marburg/Lahn. Nach zwei
Semestern legte ich das Vorphysikum und nach weiteren
drei Semestern das Physikum ab. Während der ersten
drei klinischen Semester arbeitete ich experimentell
in der Abteilung für Strahlenbiologie und medizinische
Isotopenanwendung unter Leitung von Herrn Professor
Graul. Ab Sommersemester 1962 studierte ich an der
Christian-Albrecht-Universität Kiel, wo ich im März
1964 das Staatsexamen bestand.

Ich war danach vom Mai bis einschließlich August 1964
als Medizinalassistentin an der Universitäts-Frauen-
klinik in Marburg tätig, arbeitete vom September 1964
bis Juli 1965 auf der inneren Abteilung des Kreiskran-
kenhauses Weilburg/Lahn und schließlich vom August 1965
bis Juli 1966 auf einer chirurgischen Abteilung des
Philippusstiftes in Essen-Borbeck.

Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit bewarb
ich mich um die Bestallung als Arzt, die mir mit der
Geltung ab 15.6.1966 erteilt wurde.

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die
Herren Professoren und Dozenten:

Beckmann, Bock, Bücher, Dimroth, Dittrich, Gedigk,
Gerock, Graul, Grebe, Gross, Hamm, Hartmann, Hensel,
Hildebrandt, Huber, Lang, Linneweh, Mahr, Marx,
Mattes, Maurath, du Mesnil de Rochemont, Meyer,
Müller, Niessing, Nieth, Oehme, Oehmig, Oksche,
Petry, Pirson, Prinz, Schmidt, Schmitz, Schölmerich,
Schwaiger, Seidel, Siegert, Stein, Streicher, Vogt,
Walcher, Wendt, Würterle

und in Kiel die Herren Professoren und Dozenten:

Althoff, Behrens, Bock, Doerr, Gärtner, Gerchow,
Graeber, Hallermann, Holland, Kneese, Knothe,
Kübler, Lauritzen, Laux, Meyer-Burgdorff, Müller,
Pau, Proppe, Reinwein, Rohleder, Sager, Spreter
von Kreudenstein, Störring, Uhle, Völkel, Weiss-
becker, Wiedemann, Zetler.

